

**ALKOHOLPRÄFERENZ UND CEREBRALER SEROTONINSTOFF-
WECHSEL — EINE TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG**

Albrecht Schuh

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552206_0023

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

**ALKOHOLPRÄFERENZ UND CEREBRALER SEROTONINSTOFF-
WECHSEL — EINE TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG**

INAUGURAL-DISSERTATION



zur

Erlangung des doctor rerum medicinalium der Fachbereiche

5 Vorklinische und Theoretische Medizin und
6 Klinische Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Albrecht Schuh
Fulda

1979



Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Prof. Dr. med. D. Habeck
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. K. Opitz
2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Th. Eckert

Tag der mündlichen Prüfung: 28.8.1979



Z u s a m m e n f a s s u n g

SCHUH, ALBRECHT

ALKOHOLPRÄFERENZ UND CEREBRALER SEROTONINSTOFFWECHSEL - EINE TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG

Normale Wistar-Ratten lehnen verdünnten Äthylalkohol i.a. ab, wenn ihnen gleichzeitig Trinkwasser zur Verfügung steht, ein Verhalten, das durch die intragastrische Zufuhr von 20 %igem Alkohol nicht geändert werden konnte. Dagegen wurde bei weiblichen Ratten eine bleibende Vorliebe für verdünnten Alkohol geweckt, wenn die Tiere 35 Tage lang 3 %igen (nicht wenn sie 6 %igen) Alkohol als einzige Trinkflüssigkeit erhielten. Dieses Verfahren zur Erzeugung einer hohen Alkoholpräferenz erwies sich als zuverlässig und reproduzierbar.

Zwischen dem individuellen Präferenzgrad und der cerebralen Konzentration des Neurotransmitters Serotonin (5-HT) wurde bei Ratten eine positive Korrelation gefunden. Für den 5-HT Metaboliten 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) ergab sich eine Korrelation mit negativem Vorzeichen. Ausserdem fanden wir im Gehirn alkoholpräferenter Ratten trotz dreitägiger Alkoholabstinenz signifikant mehr 5-HT als bei nichtpräferenten Tieren nach dreitägigem Alkoholzwang. Die systemische Applikation der Serotoninvorstufe 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) führte zwar zu einer Zunahme der cerebralen 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen, nicht aber zu Veränderungen des Präferenzverhaltens. Bei zusätzlicher Anwendung des peripher wirkenden Decarboxylase-Hemmers Benserazid kam es bei den Ratten zu einer Abnahme der Alkoholpräferenz. Die Verabreichung von Pharmaka, die in den cerebralen Serotoninstoffwechsel eingreifen, führte in drei Fällen zu einer Veränderung des Präferenzmusters. Quipazin, ein cerebral angreifender 5-HT Agonist, Organon 6582, ein Hemmstoff der Wiederaufnahme von 5-HT, und Probenecid, eine Substanz, die den Transport von 5-HIAA aus dem Gehirn behindert und eine Zunahme der cerebralen 5-HT Konzentration bewirkt, führten zu einem signifikanten Rückgang der freiwilligen Alkoholaufnahme. Es wird gefolgert, daß die Stimulierung serotoninerger Rezeptoren im ZNS eine Abnahme der Alkoholpräferenz bewirkt. Als Ursache für die erhöhten 5-HT Konzentrationen im Gehirn von Ratten mit spontaner Vorliebe für verdünnten Alkohol wird eine verminderte Freisetzung von 5-HT aus den synaptischen Vesikeln vermutet.

THE HISTORY OF THE

THE HISTORY OF THE

THE HISTORY OF THE

THE HISTORY OF THE

THE HISTORY OF THE

INHALT

	<u>Seite</u>
1. <u>Einleitung</u>	
Cerebraler Serotoninstoffwechsel als Vermittler alkohol-präferenten Verhaltens	1
2. <u>Definition des Begriffes Alkoholpräferenz</u>	2
3. <u>Übersicht über Methoden zur Induktion der Alkoholpräferenz</u>	
3.1 Einfluß von Streß auf das Präferenzverhalten	2
3.2 Schedule-induced polydipsia und "alcohol-drinking"	4
3.3 Effekte der intracranialen Injektion von Äthanol auf das Präferenzverhalten	5
3.4 Effekte der intragastrischen Infusion von Äthanol auf das Präferenzverhalten	6
3.5 Effekte der pulmonalen Resorption von Äthanol auf das Präferenzverhalten	7
3.6 Beeinflussung des Präferenzverhaltens durch vorübergehend erzwungene Alkoholaufnahme	8
4. <u>Experimenteller Teil I</u>	
4.1 Kriterien eines geeigneten Modells für Studien der Alkoholpräferenz an Ratten	10
4.2 Eigene methodische Untersuchungen	11
4.3 Experiment I: intragastrische Applikation von verdünntem Äthanol und nachfolgendes Präferenzverhalten Methode - Ergebnisse - Diskussion	13
4.4 Experiment II: Zwang zur Aufnahme von verdünntem Alkohol und nachfolgendes Präferenzverhalten	
a) bei Verwendung von 6 %igem Alkohol (g/g) Methode - Ergebnisse - Diskussion	18
b) bei Verwendung von 3 %igem Alkohol (g/g) Methode - Ergebnisse - Diskussion	24
4.5 Besprechung der durchgeführten Experimente	29
5. <u>Cerebraler Serotoninstoffwechsel und Alkohol</u>	
5.1 Allgemeines über Serotonin im Zentralnervensystem	34
5.2 Funktion des serotoninergeren Neurons	34
5.3 Konzentrationsveränderungen im ZNS nach akuter und/oder chronischer Verabreichung von Äthanol	36
5.4 cerebraler Serotoninstoffwechsel und Alkoholpräferenz	38

5.5	Hemmstoffe der Serotoninbiosynthese und ihre Wirkung auf die Alkoholpräferenz	39
5.6	Vorstufen des Serotonins und ihre Wirkung auf die Alkoholpräferenz Tryptophan - 5-Hydroxytryptophan (5-HTP)	42
5.7	Wirkung des Serotonins auf die Alkoholpräferenz	43
6.	<u>Experimenteller Teil II</u>	
6.1	Einführung zu den Experimenten III und IV	45
6.2	Experiment III: Grad der Alkoholpräferenz - cerebrale Konzentration von 5-Hydroxytryptamin (5-HT; Serotonin) und 5-Hydroxyindolessigsäure im Gehirn von Ratten Methode - Ergebnisse - Diskussion	45
6.3	Experiment IV: spontane Alkoholpräferenz und -aversion - Konzentration von 5-HT und 5-HIAA im Gehirn von Ratten Methode - Ergebnisse - Diskussion	48
6.4	Experiment V: Einfluß von 5-HTP auf die Alkoholpräferenz - cerebrale Konzentration von 5-HT und 5-HIAA Methode - Ergebnisse - Diskussion	53
6.5	Experiment VI: Einfluß von 5-HTP in Kombination mit Benserazid auf die Alkoholpräferenz - cerebrale Konzentration von 5-HT und 5-HIAA Methode - Ergebnisse - Diskussion	60
6.6	Experiment VII: Einfluß von Quipazin auf die Alkoholpräferenz - cerebrale Konzentration von 5-HT und 5-HIAA Methode - Ergebnisse - Diskussion	70
6.7	Experiment VIII: Einfluß von Org 6582 auf die Alkoholpräferenz - cerebrale Konzentration von 5-HT und 5-HIAA Methode - Ergebnisse - Diskussion	77
6.8	Experiment IX a und IX b: Einfluß von Probenecid auf die Alkoholpräferenz - cerebrale Konzentration von 5-HT und 5-HIAA Methode - Ergebnisse - Diskussion	84
7.	<u>Besprechung der durchgeführten Experimente</u>	95
8.	<u>Zusammenfassung</u>	100
9.	<u>Literaturverzeichnis</u>	101
10.	<u>Danksagung</u>	118
11.	<u>Lebenslauf</u>	119
12.	<u>Anhang</u>	
	a) Tabellen	I
	b) Bestimmungsmethode von 5-HT und 5-HIAA	XVII
	c) Strukturformeln der verwendeten Pharmaka	XXVI

1, Einleitung

Die Erscheinung der physischen und psychischen Abhängigkeit von Pharmaka (oder von psychotropen Substanzen) läßt sich in die Kategorie "menschliches Verhalten" einstufen. Betrachtet man die Verhältnisse für die gesellschaftsfähige "Droge" Alkohol, so fällt auf, daß nur einige wenige Menschen alkoholabhängig werden (ca. 2 - 3 %), während die Mehrzahl trotz regelmäßigen Alkoholgenusses offenbar nicht gefährdet ist. In jüngster Zeit wird neben anderen Faktoren zunehmend eine genetisch bedingte Prädisposition als mögliche Ursache angenommen, die sich wahrscheinlich in Abweichungen im Stoffwechsel der chemischen Überträgerstoffe, der sogen. Neurotransmitter, im Gehirn manifestiert. Passonen u. Giarman (1958) berichteten erstmalig über eine Interaktion zwischen Alkohol und dem zentralen Serotoninstoffwechsel bei der Ratte, was in der Folgezeit zu umfangreicher Forschungstätigkeit führte. Neben der grundsätzlichen Frage nach Wechselwirkungen zwischen Alkohol und dem cerebralen Neurotransmitter Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) ist gegenwärtig immer noch unklar, welche Rolle 5-HT im Vorstadium der manifesten Alkoholkrankheit - gekennzeichnet durch eine Verhaltensform, die als Alkoholpräferenz bezeichnet wird - spielt. Es war daher beabsichtigt, einen Beitrag zur Aufklärung dieses Problems durch tierexperimentelle und chemisch-analytische Untersuchungen zu leisten. Neben einem geeigneten Tiermodell, das sich für Studien des Präferenzverhaltens und seiner pharmakologischen Beeinflussung eignet, wurde ein biochemisches Verfahren angewendet, das eine selektive und empfindliche Quantifizierung von Serotonin und 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) im Gehirn ermöglicht. Es war nicht beabsichtigt, Bestrebungen voranzutreiben, die derzeit sogenannten "addictive alkaloids" gelten (β -Carbolinderivate, Tetrahydropapaverolinderivate). Verschiedene Autoren haben die Entstehung dieser Kondensationsprodukte aus Serotonin oder Dopamin und Formaldehyd bzw. Acetaldehyd, dem ersten Metaboliten des alkoholabbauenden Stoffwechsels, in vitro und teilweise auch in vivo nachgewiesen. Die Bedeutung dieser Substanzen für das alkoholpräferente Verhalten ist gegenwärtig jedoch nur unzureichend erforscht. Weiterhin wurde der Einfluß von Substanzen, die in den zentralen 5-HT Stoffwechsel eingreifen, auf den freiwilligen Alkoholkonsum präferenter Versuchstiere untersucht.

2. Definition des Begriffes Alkoholpräferenz

Alkoholpräferenz ist definiert als Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser einer bestimmten Konzentration in Gegenwart von reinem Trinkwasser ohne Äthanol, wobei dem Versuchstier freie Wahl zwischen beiden Flüssigkeiten eingeräumt wird (free choice situation). Der Begriff Alkoholpräferenz meint nicht Alkohol-toleranz¹ oder Alkoholdependenz², die durch ganz andere Parameter gekennzeichnet sind. Der Terminus Alkoholpräferenz beschreibt rein qualitativ, daß ein Tier verdünnten Alkohol bevorzugt. Um den Grad der Vorliebe quantitativ zu bestimmen, wird der Verbrauch innerhalb eines festgelegten Zeitintervalls registriert, wodurch auch Änderungen des Präferenzverhaltens erfaßbar sind. Untersuchungen von Nachman et al. (1971) zeigen, daß Nagetiere Äthylalkohol seines Geschmacks wegen im allgemeinen ablehnen, wobei nach Myers (1966) die Aversion mit steigender Konzentration zunimmt. Es sind daher in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Versuche durchgeführt worden mit dem Ziel, Alkoholpräferenz bei der Ratte und anderen Species zu induzieren.

3. Übersicht über Methoden zur Induktion der Alkoholpräferenz

3.1 Einfluß von Streß auf das Präferenzverhalten

Es ist verschiedentlich versucht worden, Tiere durch Streß zum Trinken zu veranlassen. Experimente dieser Art basieren auf der Annahme, daß ein Tier zur Erleichterung Alkohol trinkt entsprechend dem menschlichen alpha-Alkoholismus nach E. M. Jellinek ("Erleichterungstrinker"). Myers u. Holman (1967) untersuchten den Einfluß von Streß auf das Präferenzverhalten der Ratte. Den Versuchstieren wurden 14 Tage lang Elektroschocks in Intervallen auf die Pfoten übertragen. Während des Versuchs standen wahlweise Wasser und Äthanol in täglich

¹ Die Alkoholtoleranz (Gewöhnung an die Wirkung von Äthanol) ist durch eine Wirkungsabnahme bei wiederholter Einwirkung von Alkohol gekennzeichnet.

² Das Bestehen einer Alkoholdependenz (physische Abhängigkeit von Äthanol) zeigt sich in den Entziehungserscheinungen nach Aufhören der Alkoholzufuhr.

steigenden Konzentrationen von 3 bis 20 % zur Verfügung. Eine Gruppe von Versuchstieren erhielt vor der Schockbehandlung 20 Tage lang 12prozentigen Alkohol als einzige Trinkflüssigkeit ("acclimated group"), während einer anderen Gruppe reines Wasser zur Verfügung stand ("nonacclimated group"). Die beiden Kollektive wurden mit unbehandelten Kontrollen verglichen. Die Ergebnisse zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Alkoholaufnahme der Versuchs- und Kontrolltiere. Auch zwischen der "acclimated" und "nonacclimated group" bestanden keine Unterschiede im Präferenzprofil, das nach Fuller (1964) ermittelt wird, indem unterschiedlich konzentrierte Lösungen angeboten werden.

Mills et al. (1977) untersuchten die zeitlichen und volumetrischen Änderungen des Alkoholverbrauchs bei Ratten, die ebenfalls Elektroschocks ausgesetzt wurden. Während des Experimentes I konnten die Tiere unter der Schockbehandlung zwischen Wasser und 5 bzw. 10 %igem Alkohol wählen. Es wurde beobachtet, daß die Versuchstiere unmittelbar nach dem Schock mehr Alkohol tranken. Die Präferenz wurde nur in Verbindung mit dem "Schockerlebnis" registriert. Bei Messung des Alkoholverbrauchs im 24-Stunden-Inverall konnte eine Veränderung der Vorliebe für die Äthanollösungen nicht festgestellt werden. Um aufzuklären, ob das Verhalten der Tiere spezifisch auf Alkohol gerichtet ist, wurde im Experiment II zusätzlich 0,1 %ige Saccharinlösung angeboten. Auch bei diesem Versuch stieg der Alkoholverbrauch unmittelbar nach der Schockbehandlung an, wobei die Tiere weniger Wasser bzw. Saccharinlösung tranken. Die Autoren sehen im Ergebnis einen Zusammenhang zwischen der freiwilligen Alkoholaufnahme und dem Bestreben, den Streßwirkungen zu entinnen.

Wie das Untersuchungsergebnis von Myers. u. Holman (1967) zeigt, läßt sich durch periodisch wiederkehrenden Streß die Präferenz für Alkohol bei der Ratte nicht steigern. Präferenzprofil und Präferenzschwelle verändern sich nicht unter der Schockbehandlung, wenn die aufgenommenen Flüssigkeitsvolumina im 24-Stunden-Turnus registriert werden. Mills et al. (1977) bestätigen dieses Ergebnis, wobei jedoch der zeitliche Zusammenhang beim "stress-induced drinking" dargestellt wird. Die Präferenzinduktion be-

schränkt sich nur auf einen kurzen Zeitraum unmittelbar nach dem Schockerlebnis. Sobald Normalbedingungen herrschen, verschwindet die Vorliebe für Alkohol. Diese Methode führt unter unphysiologischen Bedingungen zu einer Kurzzeitpräferenz, wobei Barbiturate, Anaesthetika, Analgetika und Tranquilizer beim Versuchstier eine ähnliche Wirkung wie Äthanol erzielen würden, so daß die Versuchsbedingungen als unspezifisch im Hinblick auf Äthylalkohol angesehen werden müssen. Außerdem ist fraglich, ob ausschließlich zentralnervöse Ursachen zur Kurzzeitpräferenz bei der Ratte führen.

3.2 Schedule-induced polydipsia und "alcohol drinking"

Mit der sogenannten schedule-induced polydipsia stellte Falk (1961) ein weiteres Verfahren vor, bei dessen Anwendung Ratten große Mengen Alkohol trinken. Der Begriff Polydipsie wird hier nicht im Sinne einer hormonalen Störung des Wasserhaushaltes angewendet. Statt dessen beschreibt er die Erscheinung, daß Ratten unter besonderen experimentellen Bedingungen in kurzer Zeit große Flüssigkeitsmengen zu sich nehmen. Ein Beispiel: Zunächst wird das Körpergewicht der Tiere durch Beschränkung der Futteraufnahme auf 80 % des Initialgewichts reduziert. Während der folgenden Versuchsperiode werden mehrmals täglich einstündige Fütterungen angesetzt. In entsprechend ausgerüsteten Apparaturen werden der Ratte im Zwei-Minuten-Intervall Trockenfutter-Pellets mit konstantem Gewicht (beispielsweise 40 mg/Pellet) und reines Trinkwasser angeboten, das die Ratte benötigt, um das Trockenfutter zu durchfeuchten. Das Verfahren wird allgemein so lange angewendet, bis die Flüssigkeitsaufnahme nicht mehr zunimmt. Jetzt wird reines Wasser durch alkoholische Lösungen ersetzt, wobei die Konzentration in Intervallen gesteigert werden kann. Die Versuchstiere trinken dann zwischen 11 g und 15 g Äthanol pro kg und Tag. Unter diesen Bedingungen entwickelt sich offenbar eine Alkoholdependenz. Falk (1972) und Samson u. Falk (1974) berichten über ein Entzugssyndrom, gekennzeichnet durch Hyperaktivität, Tremor, Spastizität und audiogen induzierte tonisch-klonische Krämpfe.

Lester (1961) zeigte, daß die Methode geeignet ist, eine Alkoholintoxikation zu erzeugen, beobachtete aber keine Symptome physischer Dependenz.

Die experimentellen Bedingungen des Verfahrens führen offenbar dazu, daß eine Ratte bei kalorischem Defizit große Mengen Alkohol trinkt, um ihr Körpergewicht zu regulieren. Obwohl reines Wasser und Alkohol gleichzeitig zur Verfügung standen, beobachteten Lester u. Freed (1973) eine Bevorzugung des alkoholhaltigen Trinkwassers. Die Autoren machen den energetischen Gehalt des Alkohols⁺ verantwortlich für das Trinkverhalten der Tiere. Offensichtlich führt nicht die Vorliebe für Alkohol, sondern ein Mangel an Nahrung zu dem beobachteten Phänomen. Ob ein Tier spezifisch alkoholpräferent ist kann nur beurteilt werden, wenn dem Individuum Entscheidungsfreiheit bei der Futter- und Flüssigkeitsaufnahme eingeräumt wird. Die besprochene Methode mag geeignet sein, in einigen Fällen ein Entzugssyndrom zu erzeugen; für Untersuchungen der Alkoholpräferenz ist sie wenig geeignet.

3.3 Effekte der intracranialen Injektion von Äthylalkohol auf das Präferenzverhalten der Ratte

Myers (1963) untersuchte den Einfluß der intracranialen Injektion von Äthylalkohol auf das Präferenzverhalten der Ratte. Nach stereotaktischer Implantation einer Kanüle in den lateralen Hirnventrikel wurden 10 Tage lang im Abstand von 15 Minuten den einzelnen Versuchsgruppen unterschiedliche Volumina von 5 %igem und 10 %igem Alkohol infundiert. Nach dieser Periode wurde das Präferenzprofil ermittelt und mit Kontrollen verglichen, die mit isotonischer Kochsalzlösung behandelt worden waren. In Gegenwart von reinem Wasser wurde die Alkoholkonzentration der Lösungen von 3 bis auf 40 % täglich gesteigert. Während dieser Versuchsperiode war die Vorliebe für die äthanolhaltige Trinkflüssigkeit signifikant gesteigert. In einem weiteren Experiment konnte eine positive Beziehung zwischen der Präferenz für Alkohol und der intracranial applizierten Äthanol dosis nachgewiesen werden. Myers kommt zu dem Schluß, daß die Gegenwart von Äthylalkohol im Zentralnervensystem eine stärker ausgeprägte Präferenz verursacht als die orale Aufnahme, die zu einer systemischen Verdünnung und zu partiellem Metabolismus führt, bevor der Alkohol des Gehirns erreicht.

⁺ 7,0929 kcal = 29,6966 kJ pro Gramm

Ein ähnliches Experiment wurde von Cicero u. Smithloff (1973) durchgeführt. Drei Versuchstiergruppen erhielten 10 Tage lang intraventrikuläre Injektionen von 6 %, 12 % oder 20 %igem Äthylalkohol (5 µl pro Applikation). Während dieser Periode wurde 7 %iger Alkohol als einzige Trinkflüssigkeit angeboten. Die Mikroinfusionen wurden zeitgleich mit der oralen Aufnahme von Äthanol vorgenommen, um das Zeitintervall zwischen "alcohol drinking" und der Invasion ins Zentralnervensystem auszuschalten. Nach der Infusionsperiode wurde Alkohol gegen reines Wasser ausgetauscht. Die Tiere wurden 24 Stunden lang im Hinblick auf ein Entzugssyndrom beobachtet. Anschließend konnten sie zwischen Wasser und täglich steigenden Alkoholkonzentrationen von 3 bis 20 % wählen. Die Ratten erhielten dann sieben Tage lang reines Wasser und anschließend erneut alternativ Alkohol in täglich steigender Konzentration (3, 5, 7, 10, 15 und 20 %). Wie die Ergebnisse zeigen, führte die intraventrikuläre Injektion unterschiedlicher Alkoholkonzentrationen nicht zu wesentlichen Veränderungen im Präferenzmuster der Versuchstiere. Auch der prozentuale Anteil der einzelnen Alkoholverdünnungen an der Gesamtflüssigkeitsaufnahme ließ keine gesteigerte Präferenz im Vergleich mit der Kontrollgruppe erkennen.

Die Autoren führen das Ergebnis auf die starke Verdünnung des Alkohols durch den Liquor cerebrospinalis zurück. Das Gehirnwasser der Ratte hat ein Volumen von 1500 µl, was einer dreihundertfachen Verdünnung des applizierten Volumens entspricht.

Die Untersuchung von Cicero u. Smithloff zeigt, daß die angewandte Methode nicht in jedem Fall reproduzierbar ist. Darüber hinaus darf die Spezifität des intraventrikulär applizierten Alkohols im Hinblick auf die nachfolgende Präferenz angezweifelt werden, da nach Myers u. Veale (1969) auch Paraldehyd eine Zunahme der Alkoholpräferenz verursacht.

3.4 Effekte der intragastrischen Infusion von Äthylalkohol auf das Präferenzverhalten der Ratte

Ratten lehnen Äthylalkohol aus geschmacklichen Gründen ab. Werden sie gezwungen, 15 oder 20 %ige Äthanollösungen über einen

Zeitraum von mehr als fünf Monaten zu trinken, so zeigen die Tiere nach Cicero u. Smithloff (1973) nachfolgend eine ausgeprägte Aversion, wenn gleichzeitig reines Wasser bereitgestellt wird. Daher wählten Deutsch u. Koopmans (1973) die intragastrische Infusion als Applikationsweg. Nach chirurgischer Implantation einer Sonde in den Magen der Ratte wurde durch eine Pumpe 10 %iger Äthylalkohol (V/V) infundiert. Die Versuchstiere erhielten sechs Tage lang durchschnittlich 45 ml 10 %igen Alkohol pro Tag und Tier. Den Kontrolltieren wurde in gleicher Weise Wasser verabreicht. Nach der Infusionsperiode konnten die Tiere zwischen 10 %igem Alkohol und reinem Wasser wählen. Während dieser Zeit tranken die Versuchstiere durchschnittlich 22,2 ml Alkohol pro die, während die Kontrolltiere lediglich 0,8 ml pro die verbrauchten. Unter den alkoholtrinkenden Ratten ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede bzgl. der freiwillig aufgenommenen Alkoholmengen. Angaben über die Gesamtflüssigkeitsaufnahme und den prozentualen Anteil des Alkohols sind der Veröffentlichung nicht zu entnehmen. Da auch die täglich freiwillig aufgenommene Dosis in g/kg Körpergewicht fehlt, ist eine fundierte Beurteilung des Untersuchungsergebnisses erschwert. Nach vorliegenden Untersuchungen (s. Friedman u. Lester, 1977) ist das Versuchsergebnis nicht reproduzierbar (!).

3.5 Effekte der pulmonalen Resorption von Äthylalkohol auf das Präferenzverhalten der Ratte

Während Deutsch u. Koopmans die gastrointestinale Resorption des Alkohols zur Präferenzherzeugung ausnutzten, untersuchte Le Bourhis (1977) den Einfluß der pulmonalen Resorption im nachfolgenden Präferenz-Test. Die Versuchstiere befanden sich 31 Tage lang in einer Atmosphäre mit steigendem Alkoholgehalt (15 bis 22 mg/l), wo eine kontinuierliche Inhalation gewährleistet war. An den darauffolgenden 26 Tagen konnten die Versuchstiere zwischen 10 %igem Alkohol und reinem Wasser wählen. Von 17 Ratten bevorzugten 13 Tiere die Alkoholverdünnung. Diese Methode sorgt für gleichbleibende Blutalkoholspiegel und gewährleistet eine kontinuierliche Gegenwart des Äthanol im Zentralnervensystem über eine beliebige Zeitspanne hinweg, was nach Seevers u. Deneau (1963) als wesentliche Voraussetzung

angesehen wird, um physische Abhängigkeit zu erzeugen. Da Le Bourhis bei den Tieren nach Beendigung der Äthanol-Inhalation ein Entzugssyndrom beobachtete, scheint das Verfahren auch zur Erzeugung physischer Dependenz geeignet zu sein.

3.6 Beeinflussung des Präferenzverhaltens durch vorübergehend erzwungene Alkoholaufnahme

Zahlreiche Versuche sind beschrieben worden, durch eine sogenannte "forced choice period" bei der Ratte Vorliebe für Alkohol auszulösen. Während dieses Zeitraumes sind die Versuchstiere gezwungen, ihren Flüssigkeitsbedarf durch alkoholhaltiges Trinkwasser zu decken, da reines Wasser nicht zur Verfügung gestellt wird. Richter (1926) teilte mit, daß eine "Akklimatisierung" an Alkohol bei der Ratte nicht erreicht werden kann. In späteren Jahren zeigten zahlreiche Autoren, daß die erzwungene Aufnahme alkoholischer Lösungen im Konzentrationsbereich von 8 bis 24 % keine Präferenz erzeugt (Richter, 1953; Williams et al., 1950; Mardones, 1960). Rick u. Wilson (1966) fanden heraus, daß Ratten, die sechs Monate lang 2 bis 16 %igen Alkohol trinken mußten, lediglich eine leichte Zunahme ihrer Vorliebe für 2 bis 8 %ige Lösungen in einer "free choice situation" zeigten, 16 %igen Alkohol aber ablehnten.

Auch Cicero u. Smithloff (1973) versuchten, Alkoholpräferenz und -abhängigkeit durch eine "forced choice period" auszulösen. Drei Versuchsgruppen waren 160 Tage lang gezwungen, 7, 15 oder 20 %igen Äthylalkohol (V/V) zu trinken, während die Kontrollgruppe reines Wasser erhielt. Nach der "forced choice period" wurde Alkohol durch eine isokalorische Saccharose-Lösung ausgetauscht, um mögliche Entzugserscheinungen beobachten zu können. Beim anschließenden Präferenz-Test waren reines Wasser und Alkohol in täglich steigender Konzentration verfügbar. Während der Abstinenzperiode zeigten 24 % der Tiere "jumping responses", die als Bestandteil eines Entzugssyndroms gewertet werden. In der "free choice period" waren Ratten der 7-Prozent-Gruppe präferent für jede der angebotenen Verdünnungen. Die Versuchstiere der 15-Prozent-Gruppe nahmen bei Konzentrationen von 3, 5 und 7 % weniger, bei Verdünnungen von 10, 15 und 20 % mehr

Alkohol auf als die Kontrollen. Die Ratten der 20-Prozent-Gruppe zeigten sogar eine schwächere Präferenz als die Kontrolltiere, die niemals gezwungen waren, Alkohol zu trinken. Das Experiment von Cicero u. Smitholff zeigt, daß eine erzwungene Aufnahme hochprozentiger Alkohollösungen auch nach einer Zeitspanne von mehr als fünf Monaten und nachfolgenden Entzugserscheinungen eher eine Aversion bei der Ratte erzeugt. Physische Dependenz ist offensichtlich keine Voraussetzung für exzessiven Alkoholgenuß.

Ein Grund für das Verhalten der Tiere liegt im Dehydratationseffekt des Alkohols bei erzwungener Aufnahme und dem nachfolgenden Wasser-Elektrolyt-Ungleichgewicht. Dieser Sachverhalt wurde experimentell von Rick u. Wilson (1966) belegt. Die Autoren berichteten über ein Flüssigkeitsdefizit bei Ratten, die gezwungen waren, 8 und 16 %igen Alkohol zu trinken. Diese Beobachtungen wurden durch Untersuchungen von Essig (1968) bestätigt.

Um den unerwünschten Dehydratationseffekt zu vermeiden, war bei einem Experiment, das von Veale u. Myers (1969) beschrieben wurde, stets reines Wasser verfügbar. Alternativ wurde den Ratten Alkohol täglich steigender Konzentration im Bereich von 3 bis 30 % angeboten. Das Verfahren wurde siebenmal wiederholt und mit einer "forced choice period" verglichen, in der eine andere Gruppe 15 %igen Alkohol trinken mußte. In der nachfolgenden Präferenzstudie stellte sich heraus, daß die Vorliebe für Alkohol praktisch unverändert gering geblieben war, während die Tiere, denen wahlweise Wasser zur Verfügung stand, in der siebten Sequenz dreimal mehr Alkohol tranken als in der ersten Sequenz. Die Versuchsdauer betrug bis zur vierten Sequenz einschließlich bereits 60 Tage.

4. Experimenteller Teil I

4.1 Kriterien eines geeigneten Modells für Studien der Alkoholpräferenz an Ratten

Um im Screening zu untersuchen, ob eine chemische Verbindung einen Einfluß auf die Alkoholpräferenz der Ratte ausübt, ist ein geeignetes Verhaltensmodell erforderlich. Freund (1975) stellte sechs Postulate auf, die ein "ideales Tiermodell" zur Erzeugung physischer Dependenz erfüllen sollte:

1. Reproduzierbarkeit
2. innerhalb einer möglichst kurzen Zeitspanne
3. durch einfache Verfahren
4. wobei möglichst wenige Variable neben der Verabreichung von Alkohol eingeführt werden sollten (der Autor meint unterstützende Maßnahmen, wie z. B. Gewichtsreduzierung, Anwendung von Kälte, Applikation von Pyrazol, audiogen induzierte Krämpfe)
5. mit dem Ergebnis spontaner Entzugserscheinungen
6. bei allen Versuchstieren.

Spontane Entzugserscheinungen als Zeichen physischer Abhängigkeit sind für das Stadium der Alkoholpräferenz irrelevant. Nach Deutsch u. Walton (1977) stellt die Vorliebe für Alkohol lediglich eine Vorstufe dar, auf deren Grundlage sich Toleranz und schließlich Dependenz entwickeln können, weshalb Punkt fünf entfällt. Präferenz wird nicht durch die gustatorischen Eigenschaften des Alkohols ausgelöst, da nach Untersuchungen von Nachman et al. (1971) Nagetiere Äthanol seines Geschmacks wegen ablehnen. Nach Yanagita (1976) konnte tierexperimentell gezeigt werden, daß sich Versuchstiere Äthanol intragastrisch oder intravenös selbst applizieren, wobei eine graduelle Dosissteigerung festgestellt wurde. Die angewendeten Applikationsarten umgehen aber die Geschmacksorgane, was bedeutet, daß die erwünschte pharmakologische Wirkung zur Selbstapplikation führte. Neben seinen peripheren Effekten verursacht

Alkohol auch Veränderungen zentralnervöser Funktionen, die als mögliche Ursache für den freiwilligen Alkoholgenuß verantwortlich sein können. Es ist nicht auszuschließen, daß die cerebrale pharmakologische Wirkung des Äthanol's beim Versuchstier ein Erlebnis hervorruft, das in der "free choice situation" beliebig oft und in der gewünschten Intensität wiederholbar ist. Möglicherweise findet auf dieser Grundlage die Bevorzugung von alkoholhaltigem Trinkwasser statt, da reines Wasser die Substanz mit pharmakologischer Wirkung nicht enthält.

4.2 Eigene methodische Untersuchungen

Innerhalb eines Rattenstammes besteht eine ausgeprägte Variabilität der Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser, wobei die meisten Tiere selbst 3 %igen Äthylalkohol ablehnen. Um Änderungen im Präferenzverhalten einer Versuchsgruppe beobachten zu können, werden Individuen benötigt, die gemeinsam das Merkmal der Alkoholpräferenz besitzen. Nur auf dieser Grundlage ist schließlich die statistische Auswertung eines Versuchs möglich. Durch Induktion der Präferenz für Alkohol erhält man Tierkollektive, die sich für die beabsichtigten Experimente eignen. Untersucht wurden zwei Methoden, die vielfach in der Literatur mit unterschiedlichem Ergebnis beschrieben worden sind:

1. Einfluß der intragastrischen Verabreichung auf das nachfolgende Präferenzverhalten
2. Einfluß einer "forced choice period" (s.o.) auf das nachfolgende Präferenzverhalten

Das erste Verfahren sieht die Applikation einer großen Dosis vor, die direkt in den Magen eingebracht wird, um die Geschmacksorgane zu umgehen. Diese Methode ist von zahlreichen Autoren (Cannon et al., 1974; Mucha et al., 1975; Majchrowicz, 1975; Hunt, 1973; Hillbom, 1975; Noble et al. 1976) angewandt worden, um durch die toxische Dosis in kurzer Zeit physische Abhängigkeit zu erzeugen, die durch ein entsprechendes Entzugssyndrom manifestiert wird. Der Einfluß auf das Präferenzverhalten der Ratte hingegen wurde von Deutsch u. Koopmans (1973) unter-

sucht. Sechs Tage lang wurde den Versuchstieren eine Dosis von 9 g Äthanol pro kg Körpergewicht und Tag kontinuierlich infundiert. Als die Versuchstiere anschließend freie Wahl zwischen Wasser und 10 %igem Alkohol erhielten, tranken sie im Durchschnitt 4 g/kg reinen Äthylalkohol. Über Anzeichen physischer Dependenz werden keine Angaben gemacht. Da diese Methode die Präferenz für Alkohol bei der Ratte in einem kurzen Zeitraum auslösen soll, wurde die Reproduzierbarkeit des Verfahrens in unserem Laboratorium überprüft, wobei der Alkohol allerdings nicht kontinuierlich intragastrisch infundiert, sondern als 20 %ige Lösung diskontinuierlich per Schlundsonde zugeführt wurde.

Einen methodisch anderen Weg stellt das Prinzip der "forced choice period" dar, das vielfach experimentell untersucht worden ist (Kahn u. Stellar, 1960; Myers u. Carey, 1961; Williams et al., 1950; Richter, 1956). Um die Homöostase des Körperwassers aufrechtzuerhalten, ist das Versuchstier gezwungen, verdünnten Alkohol zu trinken, da eine andere Flüssigkeit zunächst nicht zur Verfügung steht. Im Unterschied zur intragastrischen Infusion gelangt der Alkohol durch Selbstapplikation in den Organismus, wobei über die Dosis und den Zeitpunkt der Aufnahme frei entschieden werden kann. Außerdem erfolgt die Aufnahme oral wie in der späteren "free choice situation", so daß der Geschmack des Alkohols vom Individuum wahrgenommen wird. Die erforderliche Zeitspanne für eine nachhaltige Präferenzinduktion liegt bei einigen Wochen bis mehreren Monaten. Nur dann erfährt das Versuchstier nach Myers (1961, 1966) den Einfluß des Alkohols auf die Psyche, wie beispielsweise "it's stress relieving qualities". Außerdem finden die "metabolischen Veränderungen" statt, die beim Tier die Präferenz für Alkohol auslösen können. Diese Methode erfordert zwar einen gewissen Zeitaufwand, ihre Reproduzierbarkeit scheint jedoch nach vorliegenden Untersuchungsergebnissen gewährleistet zu sein.

4.3 Experiment I

Methode

Als Versuchstiere dienten 20 männliche Wistar-Ratten (SPF), geliefert von der Firma Winkelmann, 4791 Kirchborchen. Die Tiere, deren Durchschnittsgewicht bei Versuchsbeginn 336 g betrug, wurden in Einzelkäfigen gehalten, an denen zwei Trinkflaschen befestigt werden können. Während des Versuchs betrug die Raumtemperatur konstant $22 \pm 1^{\circ} \text{C}$. Der Hell-Dunkel-Rhythmus war auf 12/12 Stunden eingestellt (Schaltzeiten 7 Uhr/19 Uhr). Als Futter erhielten die Tiere Altromin R Pellets ad libitum, als Trinkflüssigkeit Leitungswasser. Während der Präferenz-Testung stand wahlweise 5 %iger Alkohol (g/g) zur Verfügung, der aus absolutem Alkohol (Merck Nr. 970) durch Verdünnen mit Leitungswasser hergestellt wurde. Diese Versuchsbedingungen wurden bei den übrigen Experimenten beibehalten.

Während der Induktionsphase erhielten die Tiere täglich viermal 20 %igen Alkohol (g/g), der wie oben beschrieben hergestellt wurde, per Schlundsonde.

Die intragastrischen Applikationen wurden sechs Tage lang vorgenommen. Am ersten Tag wurde eine Dosis von 6 g/kg (berechnet als absoluter Alkohol) verabreicht, die täglich um 1 g/kg bis zur Maximaldosis von 10 g/kg gesteigert wurde. Um eine gleichmäßigere Verteilung der Tagesdosis zu erreichen, wurden die Applikationen alle sechs Stunden durchgeführt (7, 13, 19 und 1 Uhr). Das Körpergewicht der Tiere wurde täglich ermittelt.

Um das Präferenzverhalten der Tiere zu untersuchen, wurden vom siebten Tag an wahlweise 5 %iger Alkohol und reines Wasser angeboten. Der Flüssigkeitsverbrauch wurde täglich registriert und nach der Induktionsphase sieben Tage lang beobachtet. Während der Präferenzprüfung wurden die Positionen der Trinkflaschen täglich gewechselt.

Die 20 %ige Verdünnung wurde gewählt, um Komplikationen durch gastrointestinale Ulcera zu vermeiden, die nach Essig u.

Lam (1968) bei lang andauernden Applikationsperioden auftreten können.

Ergebnisse

Die Versuchstiere waren bereits nach der ersten Tagesdosis ataktisch, obwohl die Initialdosis auf vier Applikationen verteilt worden war. Im weiteren Verlauf der Behandlung trat bei einigen Tieren Bewußtlosigkeit auf, was als Zeichen einer Intoxikation zu werten ist. Am sechsten Versuchstag starb eine Ratte infolge Alkoholvergiftung. Während der Behandlungsperiode kam es bei den meisten Tieren zu einer Abnahme des Körpergewichtes. Der durchschnittliche Gewichtsverlust betrug 14 g, entsprechend 4,2 % vom Ausgangsgewicht am sechsten Behandlungstag. Das in Abb. 1 graphisch dargestellte mittlere Körpergewicht fällt auch nach der Applikationsperiode weiter ab, zeigt aber vom neunten Tag an einen Anstieg. Abb. 2 zeigt den durchschnittlichen Alkoholverbrauch während des siebentägigen Präferenz-Tests. Im Diagramm sind die 24-Stunden-Werte dargestellt. Es ist klar zu erkennen, daß die Versuchstiere reinem Wasser eindeutig den Vorzug gaben und den 5 %igen Alkohol ablehnten. In Abb. 3 ist der prozentuale Anteil des Alkohols an der Gesamtflüssigkeitsaufnahme dargestellt. Der durchschnittliche Alkoholkonsum pro Tag lag immer unter 10 %. Dabei ist zu berücksichtigen, daß vom gesamten Kollektiv eine einzige Ratte zwischen 98 und 100 % ihres täglichen Flüssigkeitsverbrauchs durch den 5 %igen Alkohol deckte. Nach der Behandlungsphase zeigten die Tiere keine Entzugserscheinungen.

Diskussion

Das Ergebnis dieses Experimentes zeigt, daß bei vorliegenden Versuchsbedingungen die "forced intubation method" weder Alkoholpräferenz noch Entzugserscheinungen bei der Ratte auslöst. Im Unterschied zum Versuch von Deutsch u. Koopmans (1973) wurde die Methodik geringfügig verändert. Da die chirurgische Implantation einer Magensonde das Kriterium "durch einfache Verfahren" (s.o.) nicht erfüllt, wurde der Alkohol im vorliegenden Experiment mit der Schlundsonde per os zugeführt. Um dennoch eine



Abb. 1: Körpergewichtsbewegungen von Ratten ($n = 19$) während und nach intragastrischer Applikation von Äthanol. Die Initialdosis von 6 g/kg wurde täglich um 1 g/kg bis zur Maximaldosis von 10 g/kg gesteigert. Nach der Behandlung wurden gleichzeitig reines Wasser und 5 %iger Alkohol als Trinkflüssigkeiten angeboten.



Abb. 2: Freiwillige Aufnahme von 5 %igem (g/g) Alkohol (gestreiftes Feld) nach intragastrischer Applikation von 6 bis 10 g/kg Alkohol. Die Behandlungsperiode ist durch den schwarzen Balken angedeutet. Das helle Feld stellt den täglichen Gesamtflüssigkeitsverbrauch dar, der sich aus reinem Wasser und alkoholhaltigem Wasser zusammensetzt (n = 19).

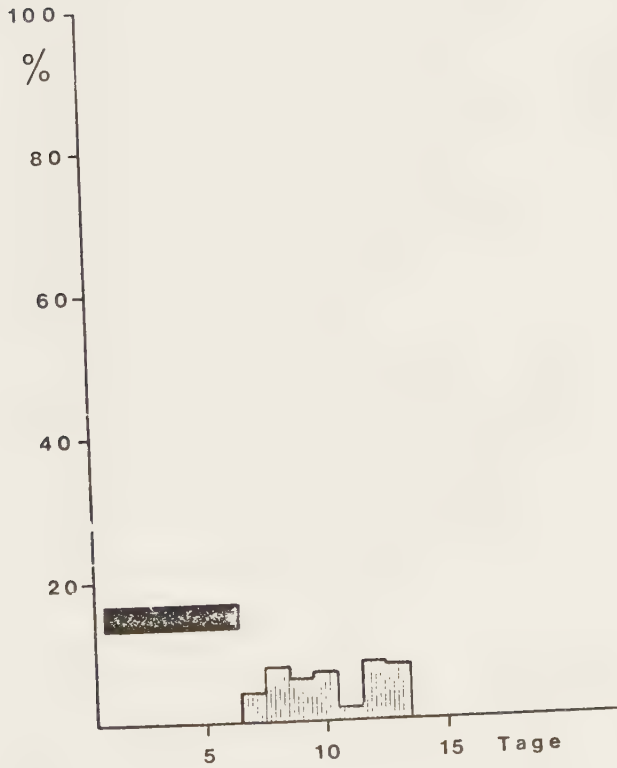


Abb. 3 Prozentualer Anteil von 5 %igem Alkohol an der täglichen Gesamtflüssigkeitsaufnahme nach einer Periode, in der Äthylalkohol sieben Tage lang intragastrisch appliziert wurde (schwarzer Balken).

gewisse Kontinuität der Wirkung zu erreichen, wurde die Tagesdosis auf vier Einzelbehandlungen mit konstantem Zeitintervall verteilt. Da die Tiere während der Behandlung zumindest permanent ataktisch, teilweise aber auch bewußtlos waren, scheint der Blutalkoholspiegel für eine nachhaltige Wirkung auf das ZNS ausreichend hoch gewesen zu sein. Daß nach einer Periode der Alkoholintoxikation eine Vorliebe für diese Flüssigkeit nicht existiert, entspricht dem Ergebnis anderer Untersuchungen (s. Friedman u. Lester, 1977). Die Autoren überprüften die angewandte Methode ebenfalls im Hinblick auf die nachfolgende Alkoholpräferenz bei der Ratte, konnten die Reproduzierbarkeit des Verfahrens aber nicht bestätigen. Eine große Dosis, die eine starke Wirkung im Organismus entspricht, die kontinuierliche Gegenwart des Pharmakons Alkohol im ZNS und die Elimination der Geschmacksorgane durch die Art der Applikation haben in dieser Konstellation nicht zur Präferenzinduktion geführt. Es hat den Anschein, daß die Zufuhr einer großen Alkoholdosis bei der naiven Ratte ein Erlebnis verursacht, das Alkohol nicht als "Genußmittel", sondern als neurotoxische Substanz klassifiziert. Daher wurden für das Experiment II entsprechende Bedingungen geschaffen, die beim Versuchstier die Entwicklung der Vorliebe für Alkohol begünstigen sollten.

Experiment II a

Methode

Als Versuchstiere dienten - wie zu allen anderen Experimenten - weibliche Wistar-Ratten (SPF) der Fa. Winkelmann, 4791 Kirchborchen, deren durchschnittliches Körpergewicht bei Versuchsbeginn 197 g betrug. Die Bedingungen der Tierhaltung entsprachen der Darstellung unter dem Abschnitt "Experiment I".

Während des Präferenz-Tests wurden den Tieren 6 %iger Alkohol (g/g) und alternativ Leitungswasser angeboten.

Das Zeitschema des Versuches gliederte sich in drei Phasen:

- I Vorperiode von fünftägiger Dauer, in der das "natürliche Präferenzverhalten" der Ratten geprüft wurde
- II Induktionsperiode mit einer Dauer von 35 Tagen, an

denen alle Versuchstiere ausschließlich 6 %igen Alkohol trinken mußten, da eine andere Flüssigkeit nicht angeboten wurde (forced choice period)

- III Nachperiode von siebentägiger Dauer, um den Einfluß der Induktionsperiode auf das Präferenzverhalten zu beobachten.

Der Flüssigkeitsverbrauch und das Körpergewicht der Tiere wurden täglich registriert. Die Position der Trinkgefäße (links bzw. rechts im Käfig) wurde täglich gewechselt.

Ergebnisse

Während der fünftägigen Vorperiode tranken die 20 Tiere pro Tag durchschnittlich 8,5 g verdünnten Alkohol, was einer freiwillig zugeführten Dosis von 1,3 g reinem Alkohol pro kg Körpergewicht entspricht. Die Gesamtflüssigkeitsaufnahme, die die täglich aufgenommenen Alkohol- und Wassermengen beinhaltet, lag bei 24,1 g. Die Tiere deckten in dieser Versuchsphase 34,2 % ihres Flüssigkeitsbedarfs durch das alkoholhaltige Trinkwasser.

Während der Induktionsphase verweigerte eine Ratte das alkoholhaltige Wasser, was zu einer bedenklichen Gewichtsabnahme führte (- 12,2 % nach sechs Tagen mit fallender Tendenz). Der Versuch wurde daher mit 19 Tieren fortgesetzt.

Im Verlauf der Nachperiode war die freiwillige Aufnahme der Alkoholverdünnung mit einem Wert von täglich 9 g praktisch unverändert. Der freiwillige Alkoholkonsum lag nun bei 1,2 g reinem Alkohol pro kg und Tag. Der Gesamtflüssigkeitsverbrauch hingegen zeigte mit durchschnittlich 32,9 g einen respektablen Zuwachs. Obwohl das Körpergewicht der Tiere während der Induktionsphase etwa um 20 g anstieg, tranken die Tiere danach überproportional mehr Flüssigkeit. Die Gesamtflüssigkeitsaufnahme stieg von 121 g pro kg und Tag während der Vorperiode auf 150 g pro kg und Tag während der Nachperiode an. Der Zuwachs beträgt 19,3 %, wobei der gepaarte t-Test die Veränderung als statistisch signifikant auswies ($p > 0,05$).

Die täglich aufgenommenen Flüssigkeitsmengen in Gramm und der prozentuale Anteil des 6 %igen Alkohols an der Gesamtflüssigkeitsaufnahme sind in Abb. 4 und 5 dargestellt. Der linke Block enthält die Werte der Vorperiode, der rechte Block die der Nachperiode. Da die Positionen der Trinkgefäße täglich einheitlich vertauscht wurden, läßt die Darstellung Rückschlüsse zu auf die Wechselwirkungen zwischen der Präferenz für eine bestimmte Trinkposition im Käfig. Überwiegt beim Versuchstier immer nur die Vorliebe für eine Trinkposition, so wird es an einem Tag ausschließlich verdünnten Alkohol (= 100 %) und am darauffolgenden Tag ausschließlich reines Wasser trinken, da sich beide Flüssigkeiten nacheinander in der bevorzugten räumlichen Anordnung befanden. Überwiegt jedoch ausnahmslos die Vorliebe für eine der beiden Flüssigkeiten, so wird das Individuum unabhängig von der Anordnung stets das begehrte Getränk selektieren. Der Kurvenverlauf läßt erkennen, daß in diesem Experiment das Phänomen der Positionspräferenz den Flüssigkeitsverbrauch nur unwesentlich beeinflußt.

Diskussion

Bei gegebener Versuchsanordnung unter Verwendung von 6 %igem Alkohol läßt sich die Präferenz der Versuchstiere nicht steigern. Bei einem Vergleich des Präferenzverhaltens während der Vor- und Nachperiode stellt man fest, daß die angewandte Methodik zumindest nicht zu einer ausgeprägten Alkoholaversion führte, wie im Fall der "forced intubation method". Diese Beobachtung mag mit den gemäßigten Versuchsbedingungen zusammenhängen. Um zu überleben ist die Ratte in der "forced choice period" gezwungen, alkoholhaltiges Wasser zu trinken. Während die "forced intubation method" ein Dosierungsschema voraussetzt, das vom Experimentator festgelegt wird und dem das Versuchstier ausgeliefert ist, verbleibt im Fall der "forced choice period" ein Stück Entscheidungsfreiheit. Die Ratte unterliegt zwar dem "Alkoholzwang"; über die tägliche Dosis und den Zeitpunkt der Aufnahme kann das Individuum jedoch frei entscheiden. Es ist denkbar, daß unter diesen Bedingungen eine Gewöhnung an den Geschmack und an die pharmakologischen Eigenschaften des Alkohols stattfindet, die in der "free choice situation" als präferenzbestimmender Faktor wirkt.



Abb. 4: Freiwillige Alkoholaufnahme bei Ratten ($n = 19$) in Gegenwart von reinem Wasser vor und nach einer Versuchsperiode, in der die Tiere gezwungen waren, 6 %igen Alkohol zu trinken. Das gestreifte Feld zeigt den täglichen Verbrauch an 6 %igem Alkohol, das helle Feld den Gesamtflüssigkeitsverbrauch. Der linke Block gibt das Trinkverhalten während der Vorperiode wieder, während der rechte Block den Einfluß der erzwungenen Alkoholaufnahme auf den freiwilligen Verbrauch widerspiegelt.

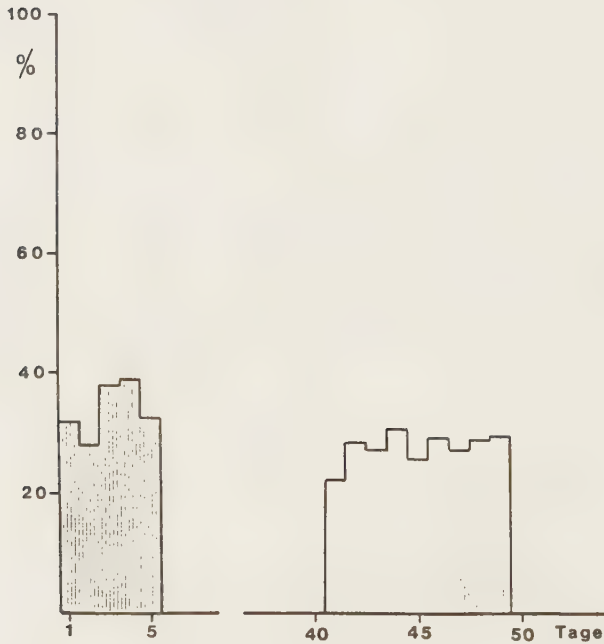


Abb. 5: Prozentualer Anteil der täglich freiwillig aufgenommenen Alkoholmenge an der Gesamtflüssigkeit vor und nach einer Periode, in der den Versuchstieren 6 %iger Alkohol als einzige Trinkflüssigkeit zur Verfügung stand.

Die vorliegenden Ergebnisse stimmen tendenziell mit den Beobachtungen anderer Autoren überein (Richter, 1953; Mardones, 1960; Rick u. Wilson, 1966). Zu den experimentellen Beobachtungen von Cicero u. Smithloff (1973) besteht jedoch eine gewisse Abweichung, da die Verfasser über eine Steigerung der Alkoholpräferenz berichten, nachdem die Versuchstiere während der "forced choice period" 7 %igen Alkohol trinken mußten. Die Induktionsperiode war allerdings mit einer Dauer von 120 Tagen um das Dreifache länger. Da auch Rick u. Wilson (1966) nach sechsmonatigem Alkoholzwang zu ähnlichen Ergebnissen kamen, ist nicht auszuschließen, daß das Zeitintervall der Induktionsphase von Bedeutung ist, wenn eine Vorliebe für Alkohollösungen höherer Konzentration erreicht werden soll. Werden in der "forced choice period" jedoch Lösungen bereitgestellt, die mehr als 10 % Alkohol enthalten, so wird im nachfolgenden Präferenz-Test selten eine Vorliebe für diese Lösungen beobachtet. Das Präferenzverhalten wird dann nicht mehr durch die zeitliche Ausdehnung der Induktionsperiode, sondern offensichtlich durch die Konzentration der Äthanolverdünnung bestimmt (Cicero u. Smithloff, 1973; Rick u. Wilson, 1966; Veale und Myers, 1969). Es war allerdings nicht beabsichtigt, die Versuchstiere zum freiwilligen Trinken hochprozentiger Äthanolverdünnungen zu bewegen. Die Untersuchungen zielten vielmehr darauf ab, freiwilligen Alkoholkonsum in der Form auszulösen, daß ein Individuum täglich eine beträchtliche Alkoholdosis in Gramm pro kg zu sich nimmt.

Um die Ursachen des Präferenzverhaltens während der Nachperiode im Vergleich zur Vorperiode beurteilen zu können, scheint der durchschnittliche Gesamtflüssigkeitsverbrauch eine gewisse Bedeutung zu haben. Aus Abb. 4 ist ersichtlich, daß nach der Periode des Alkoholzwanges von den Tieren erheblich mehr Wasser getrunken wurde, was wahrscheinlich der diuretischen Wirkung des Äthanol zuzuschreiben ist. Dabei wirkt Äthylalkohol

1. durch eine Hemmung der Vasopressinausschüttung (van Dyke et al., 1951; Rubini et al., 1955) und
2. als mildes Osmodiuretikum aufgrund der Hydroxylgruppe, die wegen ihrer hydrophilen Eigenschaften Wasser bindet (Bruger, 1940).

Im Verlauf der "forced choice period" tritt daher eine Störung des Wasser/Elektrolytgleichgewichtes ein, die einer Exsiccose vergleichbar ist (Rick u. Wilson, 1966; Essig, 1968). Sobald erneut reines Wasser zur Verfügung steht versucht das Individuum, seinen Elektrolythaushalt durch vermehrte Wasseraufnahme zu regulieren. Es ist nicht auszuschließen, daß unter diesen experimentellen Bedingungen wegen der nachteiligen Beeinflussung des Wasserhaushaltes eine Vorliebe für Alkohol nicht zustande kommt. Deshalb wurde ein Versuch mit einer Alkoholverdünnung von 3 % angeschlossen, die vermutlich keine nennenswerten Auswirkungen auf den Elektrolythaushalt haben würde.

Experiment II b

Methode

Als Versuchstiere dienten wieder 20 weibliche Wistar-Ratten (SPF) der Firma Winkelmann, deren durchschnittliches Körpergewicht zu Versuchsbeginn 208 g betrug. Die Tiere waren während des Versuches einzeln in Makrolonkräfigen untergebracht (Maße: 26,5 x 20,5 x 17,5 cm, L x B x H).

Als Trinkgefäße wurden zylindrische Flaschen aus Kunststoff verwendet, an deren unterem Ende ein Trinkventil aus rostfreiem Stahl eingeschraubt ist. Um die Gleichwertigkeit der Ventile zu gewährleisten, wurden Ventildfedern mit übereinstimmender Federkonstanten eingesetzt. Vor der Messung des Flüssigkeitsverbrauchs erhielten die Tiere acht Tage lang Gelegenheit, den Umgang mit dem Mechanismus der Ventile zu erlernen.

Um die Ausbildung einer bevorzugten Trinkposition zu verhüten, die nach Gillespie u. Lucas (1957) zu einer Verfälschung der tatsächlichen Präferenz führen kann, wurde die sogenannte "two choice, three bottle rotating method" angewendet. Dieses Verfahren ist von Myers u. Holman (1966) vorgeschlagen worden. Um die Präferenz für eine von zwei Flüssigkeiten zu untersuchen, werden pro Käfig drei Trinkgefäße installiert. Zwei Flaschen enthalten die unterschiedlichen Testflüssigkeiten, während das dritte Gefäß leer bleibt. Die Position der Flaschen wird nach einem fest-

liegenden Schema täglich gewechselt, so daß sich die Flüssigkeiten nie in einer linken oder rechten Dauerposition befinden. Flüssigkeitsverbrauch und Körpergewicht wurden täglich registriert. Das Zeitschema zur Präferenzinduktion wurde Experiment II a entsprechend beibehalten. Der 35tägigen Induktionsperiode wurde wiederum eine fünftägige Vorperiode vorgeschaltet, um die Ratten zwischen Alkohol und reinem Wasser wählen zu lassen. Dieses Schema wird als ein entscheidender Faktor für eine Entwicklung der Alkoholpräferenz angesehen (Kahn u. Stellar, 1960; Mardones, 1960; Myers 1961). Abweichend von Experiment II a wurde in dieser Präferenzstudie stets 3 %iger Alkohol (g/g) angeboten. Die übrigen experimentellen Bedingungen entsprechen der Beschreibung zum Experiment II a.

Ergebnisse

Die Untersuchung des unbeeinflussten Präferenzverhaltens der zwanzig Versuchstiere in der Vorperiode ergab beträchtliche individuelle Unterschiede bzgl. der Alkoholselektion. Lediglich vier Ratten tranken vom ersten Tag an lieber Alkohol als Wasser, während die übrigen Tiere reinem Wasser eindeutig den Vorzug gaben. In diesem Zusammenhang fiel auf, daß die prozentualen Anteile der selektierten Flüssigkeiten stark zur 100-Prozent- oder zur 0-Prozentmarke tendierten. Die Wahl der Trinkflüssigkeiten war bei 100 Einzelmessungen nur neunmal im Bereich von 30 bis 70 % angesiedelt, was eine starke Polarisierung des Präferenzverhaltens andeutet.

Nach der Induktionsperiode zeigten 16 von 20 Versuchstieren (entsprechend 80 %) eine ausgeprägte Vorliebe für die 3 %ige Alkoholverdünnung in Gegenwart von reinem Wasser. Die freiwillig aufgenommene Dosis der präferenten Tiere lag während der Nachperiode durchschnittlich bei 3,3 g pro kg und Tag, während der Vorperiode bei 0,9 g/kg. Die freiwillige Alkoholselektion war nach der Induktionsphase um den Faktor 3 gesteigert. Der Gesamtflüssigkeitsverbrauch stieg von durchschnittlich 105,5 g pro kg und Tag während der Vorperiode auf 113,4 g/kg während der Nachperiode an, was einem Zuwachs von 6,9 % entspricht. Der gepaarte t-Test wies diese Veränderung als statistisch signifikant aus ($p < 0,02$).

In Abb. 6 sind der tägliche Gesamtflüssigkeitsverbrauch und der tägliche Alkoholverbrauch in Gramm dargestellt. Der linke Block zeigt das Trinkverhalten der Versuchstiere vor der Induktionsphase, der rechte Block nach der Induktionsphase. In Abb. 7 ist der prozentuale Anteil des 3 %igen Alkohols an der Gesamtflüssigkeitsaufnahme für die Vor- und Nachperiode dargestellt. Im Vergleich zur Vorperiode nahm der Anteil des 3 %igen Alkohols um 54 % zu; er stieg von 28 % auf 82,5 % an.

Der Kurvenverlauf zeigt, daß die Auswahl der Flüssigkeiten unabhängig von ihrer Position erfolgte.

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse stützen nicht die Beobachtungen von Richter u. Campbell (1940), wonach eine Ratte stark verdünnte Alkohollösungen in Gegenwart von Wasser allgemein bevorzugt. Es ist vielmehr eine Streuung des Merkmals "alkoholpräferent" festzustellen, wobei 80 % der Versuchstiere Äthylalkohol selbst in einer Verdünnung von 3 % ablehnen. Werden Ratten hingegen einige Wochen lang gezwungen, ihren Flüssigkeitsbedarf mit 3 %igem Alkohol zu decken, so beobachtet man im nachfolgenden Präferenz-Test eine ausgeprägte Vorliebe für diese Flüssigkeit bei immerhin 80 % der Versuchstiere. Die verbleibenden 20 % lehnen Alkohol nach wie vor ab. Der tägliche Verbrauch der einzelnen Ratte und des Kollektives erweist sich als durchaus stabil, wie den graphischen Darstellungen zu entnehmen ist. Das Präferenzverhalten ändert sich auch dann nicht, wenn die Beobachtungen über einen Zeitraum von beispielsweise sechs Wochen ausgedehnt werden. Die dargelegten Ergebnisse befinden sich in Übereinstimmung mit dem Untersuchungsergebnis von Rondeau et al. (1977).

In Anlehnung an Experiment II a wird der Diurese-Effekt des Alkohols erneut bestätigt, wenn auch in abgeschwächter Form. Obwohl die Konzentration herabgesetzt worden war, stieg der Gesamtflüssigkeitsverbrauch um etwa 7 % im Vergleich zur Vorperiode an, blieb aber deutlich unter dem 19-Prozent-Wert des Experimentes II a. Es ist denkbar, daß die höher konzentrierte

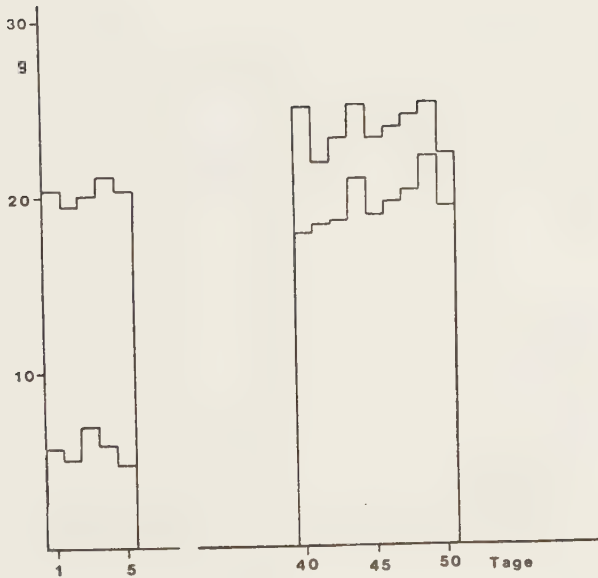


Abb. 6: Freiwillige Alkoholaufnahme bei Ratten ($n = 20$) in Gegenwart von reinem Wasser vor und nach einer Versuchsperiode, in der die Tiere gezwungen waren, 3 %igen Alkohol zu trinken. Das gestreifte Feld zeigt den täglichen Verbrauch an 3 %igem Alkohol, das helle Feld den Gesamtflüssigkeitsverbrauch. Der linke Block gibt das Trinkverhalten während der Vorperiode wieder, während der rechte Block den Einfluß der erzwungenen Alkoholaufnahme auf den freiwilligen Verbrauch widerspiegelt.

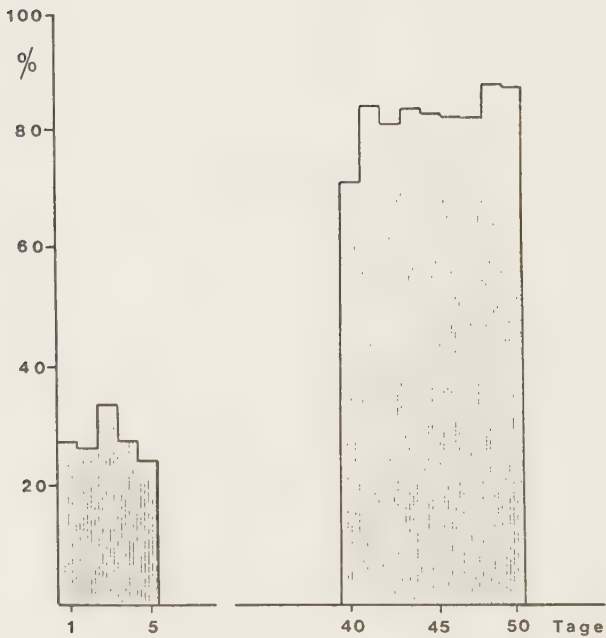


Abb. 7: Prozentualer Anteil der täglich freiwillig aufgenommenen Alkoholmenge an der Gesamtflüssigkeit vor und nach einer Periode, in der den Versuchstieren 3 %iger Alkohol als einzige Trinkflüssigkeit zur Verfügung stand.

Lösung beim Versuchstier eine Assoziation zwischen der Störung des Wasserhaushaltes und dem Alkoholgenuß begünstigt, so daß sich eine Vorliebe für Äthanol nicht entwickelt. Die schwächer konzentrierte Lösung hingegen scheint die "angenehme" Wirkung des Äthanols überwiegen zu lassen, weswegen sich eine andauernde Vorliebe für Alkohol etabliert. Um diese Frage zu klären, bedarf es jedoch weiterer, eingehender Untersuchungen.

Die täglichen Verbrauchswerte der zur Wahl stehenden Flüssigkeiten werden durch den Kurvenverlauf als weitgehend konstant dargestellt. Die Position der Trinkflaschen beeinflusst die tatsächliche Präferenz für eine Flüssigkeit offensichtlich nicht. Der Unterschied zur zwei-Flaschen-Methode erscheint allerdings gering, so daß auch dieses letztere Verfahren als geeignet angesehen werden darf.

4.5 Besprechung der durchgeführten Experimente

Die Ergebnisse der drei Versuche zeigen, daß das Versuchsziel, nämlich eine langzeitstabile freiwillige Alkoholaufnahme zu erreichen, stark von der Wahl der Induktionsmethode abhängig zu sein scheint. Die erprobten Verfahren weisen grundsätzliche Unterschiede auf. Hierbei räumt nur die Methode der "forced choice period" dem Individuum eine gewisse Entscheidungsfreiheit ein. Die Maßnahmen der "forced intubation method" entsprechen nicht dem Willen des Versuchstieres, sondern dem des Experimentators, der auf unphysiologischem Weg die willkürlich festgesetzte Alkoholdosis via Sonde verabfolgt. Die Applikation verursachte bei den Ratten Anzeichen einer Intoxikation, die im Gegensatz zu den Untersuchungen von Deutsch u. Koopmans (1973) zu einer Alkoholaversion führte. Es hat den Anschein, daß der uneingeschränkte Alkoholzwang in Verbindung mit der toxischen Dosis die Vorzüge der "Droge Alkohol" nicht erkennbar macht, so daß eine Vorliebe nicht erwächst. Bei der Methode der "forced choice period" entscheidet das Individuum in gewissen Grenzen selbst über die Dosis. Die Aufnahme des Alkohols erfolgt wie auch beim späteren Präferenz-Test per os, das Tier trinkt Alkohol. Zeitpunkt und Häufigkeit der Alkoholzufuhr sind steuerbar. Auf dieser Grundlage scheint die Entwicklung einer Vorliebe

für die "Droge" stattzufinden, wobei das Merkmal über einen langen Zeitraum erhalten bleibt. Auf dieser Basis ist schließlich die Untersuchung von Pharmaka auf das Präferenzverhalten möglich. Die Intubationsmethode hingegen scheint sich eher zur Erzeugung eines Entzugssyndroms zu eignen.

Werden die Ergebnisse der drei Versuche miteinander verglichen, so erweist sich allein die im Experiment II b angewandte Methode als effizient, da die freiwillige Alkoholaufnahme in diesem Fall ausgeprägt ist, wie Abb. 8 zeigt.

Die Anwendung dieser Methode führt zu andauernder Alkoholpräferenz, dokumentiert durch freiwillige Selektion von Äthylalkohol unter physiologischen Haltungsbedingungen. Der tägliche Verbrauch erwies sich - bezogen auf ein Individuum und auf ein Kollektiv - als weitgehend stabil. Von den eingesetzten Versuchstieren zeigten nach der Induktionsphase 80 % eine Vorliebe für Alkohol. Diese Beobachtungen wurden durch weitere Versuche bestätigt, was die Reproduzierbarkeit des Verfahrens unterstreicht.

Wie Experiment II a zeigt, beschränkt die diuretische Wirkung des Alkohols das Verfahren auf schwach konzentrierte Lösungen. Daher sollte nach Veale u. Myers (1969) immer reines Wasser zur Verfügung stehen. Wird unter diesen Bedingungen gleichzeitig Äthylalkohol in täglich steigender Konzentration angeboten und dieses Verfahren mehrfach wiederholt, so kommt es zu einer beträchtlichen Präferenzsteigerung, wie in Abb. 9 dargestellt. Zwischen der dritten und siebten Sequenz tranken die Versuchstiere durchschnittlich 3,2 bis 3,7 g reinen Alkohol pro kg Körpergewicht und Tag. Die Ratten in unserem Versuch II b tranken nach der "forced choice period" im Durchschnitt 3,3 g/kg reinen Alkohol. Das von Myers vorgestellte Verfahren ist aber arbeitstechnisch viel aufwendiger, da Tag für Tag eine andere Konzentration bereitgestellt werden muß. Wird die Beobachtung des Präferenzverhaltens über die vierte Sequenz hinaus ausgedehnt, schmälert auch der Zeitfaktor die Effektivität der Methode.

Darüber hinaus haben frühere Versuche im hiesigen Laboratorium gezeigt, daß die Alkoholpräferenz mit diesem Verfahren nicht in dem genannten Maß gesteigert werden kann.

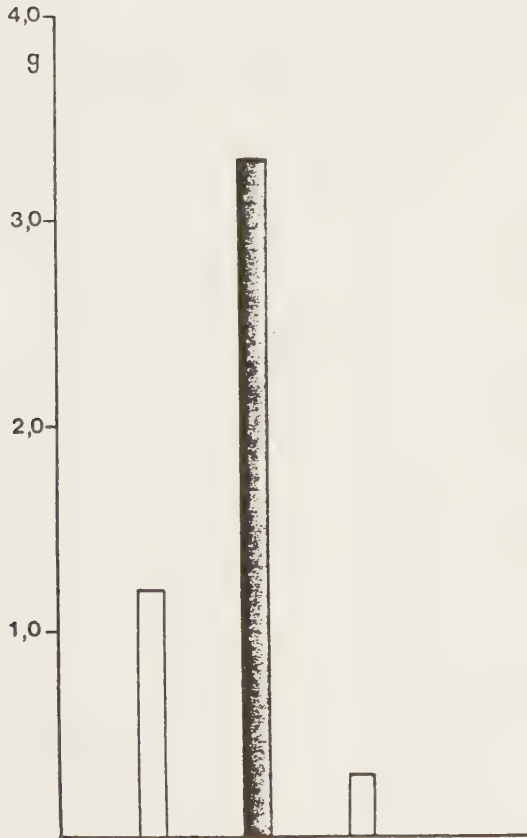


Abb. 8: Vergleichende Darstellung der freiwilligen Alkoholaufnahme bei Ratten in g pro kg Körpergewicht und Tag, hervorgerufen durch unterschiedliche Induktionsmethoden. Die rechte Säule zeigt den Verbrauch nach einer Periode, in der Alkohol in einer Dosis von 6 bis 10 g/kg intragastrisch appliziert wurde. Die beiden anderen Säulen geben die ermittelten Verbrauchswerte nach einer Periode wieder, in der die Tiere gezwungen waren, 6 %igen (links) und 3 %igen Alkohol zu trinken.

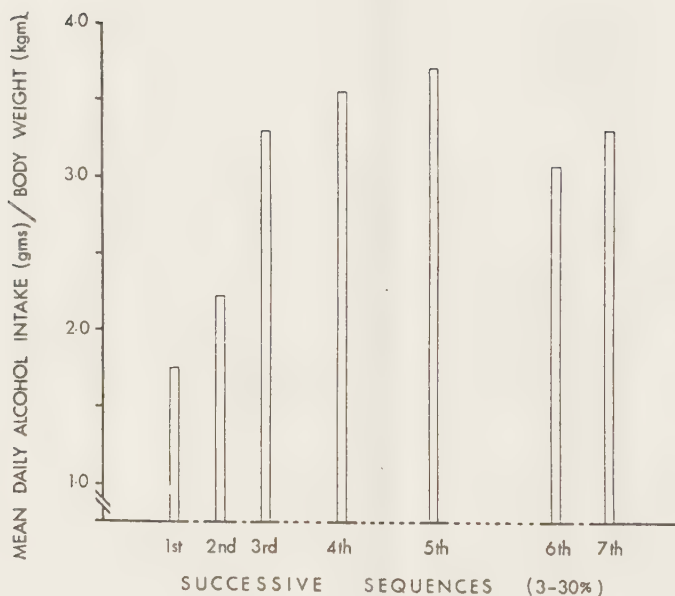


Abb. 9: Mittlerer täglicher Alkoholkonsum (in g pro kg Körpergewicht) von 6 männlichen Ratten während 7 Sequenzen zu je 11 Tagen, während der zusätzlich zum Trinkwasser Äthanol in täglich ansteigenden Konzentrationen (von 3 bis 30 Vol %) angeboten wurde. Zwischen der 1., 2. und 3. Sequenz lag je ein Tag ohne Alkohol, zwischen der 3. und 4. Sequenz lagen 2 Wochen, zwischen der 4. und 5. Sequenz lagen 6 Wochen, zwischen der 5. und 6. Sequenz lagen 5 Monate, und zwischen der 6. und 7. Sequenz lag wieder nur ein Tag ohne Alkohol (Original-Abbildung nach Veale u. Myers, 1969).

Nach dem Gesagten kann vernünftigerweise nichts gegen die ausschließliche Verwendung von nur 3 %igem Alkohol eingewendet werden.

5. Cerebraler Serotoninstoffwechsel und Alkohol

5.1 Allgemeines über Serotonin im Zentralnervensystem

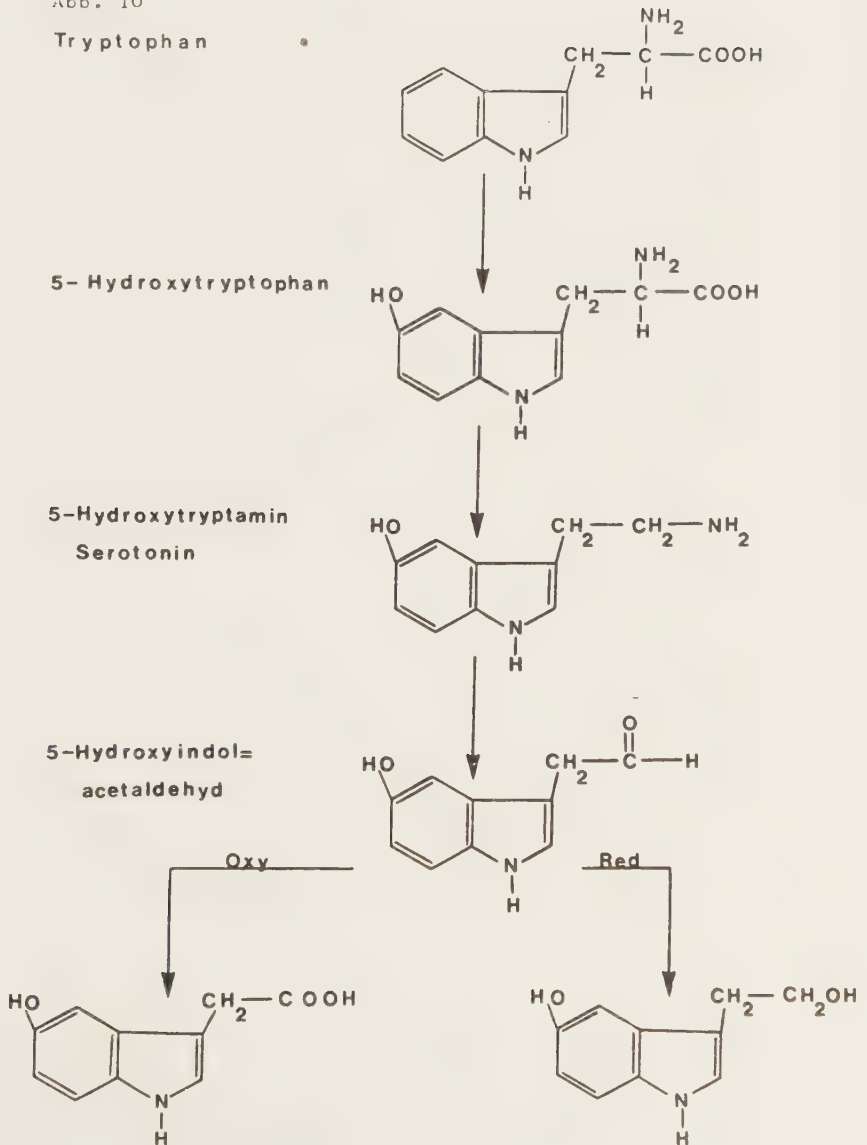
Mit dem Nachweis von Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) im Zentralnervensystem (ZNS) der Säugetiere setzte ein lebhaftes Bestreben ein, die physiologische Rolle des biogenen Amins aufzuklären. Inzwischen schreibt man dieser chemischen Verbindung die Funktion eines Neurotransmitters zu. Serotonin ist nach Feldberg (1968) offenbar in die Regelung der Körpertemperatur einbezogen, und seine Bedeutung bei der Steuerung der Nahrungsaufnahme ist seit geraumer Zeit Gegenstand intensiver Forschungsarbeit (Costa et al., 1971; Duhault u. Verdavainne, 1967; Ghezzi et al., 1973; Opitz 1967). Veränderungen im Serotoninstoffwechsel sind als Ursachen geistiger Erkrankungen angesehen worden (Woolley, 1962; Weil-Malherbe, 1972). Gegen Ende der fünfziger Jahre erschienen die ersten Veröffentlichungen, die über Wechselwirkungen zwischen Äthanol und dem cerebralen Serotoningehalt berichten (Gursey et al., 1959; Paasonen u. Giarman, 1958). Eine Dekade später wurden erstmalig Pharmaka vorgestellt, die einen Einfluß auf den Serotoninstoffwechsel des Gehirns ausüben und gleichzeitig den freiwilligen Alkoholverbrauch der Ratte senken (Myers u. Veale, 1968; Opitz, 1969). Obwohl seitdem die Forschung auf diesem Gebiet expandierte, sind die neurochemischen Mechanismen, die der Alkoholpräferenz und -abhängigkeit zugrunde liegen, noch immer nicht aufgeklärt.

5.2 Zur Funktion des serotoninerger Neurons

Die Biosynthese des Serotonins im Gehirn findet in der Nervenzelle statt. Primärsubstrat ist die essentielle Aminosäure Tryptophan, die über den Blutstrom ins ZNS gelangt. Nach der Aufnahme durch die Nervenzelle findet die enzymatische Umwandlung zu 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) statt, wobei durch das Enzym Tryptophan-Hydroxylase eine Hydroxylgruppe in Position 5 eingeführt wird (Abb. 10). Die Bildung von 5-HTP wird als der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Gesamtreaktion angesehen. Unmittelbar nach seiner Biosynthese wird 5-HTP zu Serotonin decarboxyliert, wobei das Enzym 5-HTP-Decarboxylase die Reaktion steuert. Serotonin wird in synaptische Vesikel eingespeichert

Abb. 10

Tryptophan •



5 - Hydroxyindolessigsäure

5 - Hydroxytryptophol

und durch Vermittlung eines Nervenimpulses freigesetzt. Es gelangt dann in den synaptischen Spalt, wo es zu den Rezeptoren der postsynaptischen Membran diffundiert und eine Depolarisation auslöst. Durch diesen Vorgang hat die Impulsübertragung stattgefunden. Nach Verlassen des Rezeptors wird Serotonin größtenteils wieder in das präganglionäre Neuron aufgenommen und erneut eing gespeichert oder enzymatisch abgebaut. Dieser Schritt wird durch das Enzym Monoaminoxidase eingeleitet, das die Umwandlung zum 5-Hydroxyindolacetaldehyd katalysiert. Die Bildung des Endprodukts erfolgt entweder oxidativ durch die Aldehyd-Dehydrogenase zur 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) oder reduktiv zu 5-Hydroxytryptophol (5-HTOL). Im Hirngewebe wird als Endprodukt nahezu quantitativ 5-HIAA gebildet und über ein spezielles Transportsystem eliminiert, das den Stoffaustausch zwischen dem Gehirn und dem Blut kontrolliert (Blut-Hirn-Schranke).

5.3 Konzentrationsveränderungen im ZNS nach akuter und/oder chronischer Verabreichung von Äthanol

In vielen Laboratorien wurde der Einfluß des Äthylalkohols auf den Serotoningehalt im Gehirn von Versuchstieren nach akuter und/oder nach chronischer Verabreichung untersucht. Die vorliegenden Ergebnisse sind widersprüchlich, denn einige Autoren berichten über einen Anstieg der 5-HT Konzentration (Paasonen u. Giarman, 1958; Bonnycastle et al., 1962), andere über einen unveränderten 5-HT Spiegel (Häggendal u. Lindqvist, 1961; Frankel et al., 1974) und wieder andere über einen verminderten 5-HT Gehalt (Gursey et al., 1959; Gursey u. Olson, 1960). Alkoholbedingte Änderungen im bevorzugten Abbauweg von 5-HT sind ebenfalls gefunden worden. Unter normalen Bedingungen wird 5-HT auf oxidativem Weg beinahe vollständig zu 5-HIAA umgewandelt, während ein geringer Anteil reduktiv zu 5-HTOL metabolisiert wird (s. Abb. 10). In Gegenwart von Alkohol stellte Forsander (1970) in der Leber eine Verschiebung zugunsten des reduktiven Abbaus von 5-HT und somit eine vermehrte Bildung von 5-HTOL fest. Ob dieses Phänomen auch im ZNS stattfindet, ist mehrmals mit widersprüchlichen Ergebnissen erforscht worden (Feldstein u. Sidel, 1969; Tyce et al., 1968; Tytell u. Myers, 1973).

Dies gilt auch für den Umsatz (turnover) des Serotonins, der in den meisten Fällen durch Applikation des MAO-Inhibitors Pargyline ermittelt wird.

Einige Autoren fanden nach akuter Applikation von Äthanol im Gehirn von Ratten einen beschleunigten 5-HT turnover (Tytell u. Myers 1973, Wallgren 1973). Diesem Befund widersprechen Ergebnisse, nach denen eine Verlangsamung des 5-HT turnovers eintritt (Hunt u. Majchrowicz 1974, Tyce et al. 1970). Frankel et al. (1974) schließlich zeigte, daß weder akute noch chronische Verabreichung von Alkohol den turnover von 5-HT im Ganzhirn der Ratte verändert.

Eine vergleichende Beurteilung ist wegen der unterschiedlichen Versuchsbedingungen schwierig. Dazu gehört die Verwendung verschiedener Versuchstierspecies und -stämme. Welche Auswirkungen dieser Faktor auf das Versuchsergebnis haben kann, ist eindrucksvoll von Myers u. Melchior (1975) dargelegt worden. Die Autoren untersuchten den Einfluß des L-Tryptophangehaltes im Futter auf das Präferenzverhalten von drei Rattenstämmen. Die Tiere des Royal-Victoria-Stammes tranken mehr Alkohol bei erhöhter Tryptophankonzentration in der Nahrung, die Ratten des Sprague-Dawley-Stammes zeigten keine Reaktion auf den erhöhten Tryptophanzusatz, während die Tiere des Long-Evans-Stammes, bezogen auf das Trinkverhalten, eine Zwischenposition einnahmen. Dieses Ergebnis deutet an, daß fundamentale genetisch bedingte Unterschiede im Stoffwechsel des serotoninergen Systems bestehen, die ggf. eine Wechselwirkung mit Alkohol ermöglichen, erkennbar am variierenden Präferenzverhalten der einzelnen Rattenstämme.

Die breit gestreuten Ergebnisse können außerdem durch die jeweilige Alkoholdosis in Verbindung mit der angewandten Applikationsart bedingt sein. Nach Hunt u. Majchrowicz (1974) gibt es eine Verknüpfung zwischen dem Blutalkoholgehalt und dem cerebralen Serotonin-Umsatz. Im Falle eines hohen Alkoholspiegels wurde ein verlangsamter turnover konstatiert, dem meistens ein erhöhter 5-HT Gehalt entspricht. Da der Blut-

alkoholgehalt nicht nur von der Dosis, sondern auch von der Zeit abhängig ist, kommt der Zeitraum zwischen der Invasion des Alkohols in den lebenden Organismus und der Entnahme des Gehirns als eine weitere beeinflussende Größe hinzu. Schließlich sei auch noch die Problematik der biochemischen Analytik des Serotonins erwähnt, deren Spezifität, gemessen an den älteren Bestimmungsmethoden, ständig verbessert werden konnte.

5.4 Cerebraler Serotoninstoffwechsel und Alkoholpräferenz

Bei den bisher besprochenen Experimenten wurde die Alkoholdosis zwangsweise appliziert, um herauszufinden, in welcher Weise Äthanol den cerebralen Serotoninstoffwechsel beeinflusst. Umgekehrt ist aber auch die mögliche Bedeutung des cerebralen 5-HT Stoffwechsels im Hinblick auf freiwilligen Alkoholkonsum untersucht worden. Eriksson (1968) ist es gelungen, durch Auszucht und Selektion von Wistar-Ratten zwei Stämme zu züchten, von denen einer als genetisches Merkmal Präferenz für 10 %igen Alkohol besitzt (alcohol addicted = AA), während der andere eine ausgeprägte Aversion zeigt (alcohol non addicted = ANA). Ahtee u. Eriksson (1972; 1973) bestimmten den 5-HT und 5-HIAA Gehalt im Gehirn der beiden Stämme vor, während und nach einer Versuchsperiode, während der Wasser und 10 %iger Alkohol wahlweise angeboten wurden. Außerdem wurden Ratten des ANA-Stammes gezwungen, einen Monat lang Alkohol zu trinken. Obwohl die Individuen des AA-Stammes noch nie Kontakt mit Alkohol hatten, war der 5-HT Gehalt um 15,5 % höher als bei den ANA-Individuen. Während der "free choice situation" stieg die cerebrale 5-HT Konzentration der AA-Ratten weiter an und blieb auch einen Monat danach über dem level des nichtpräferenten Stammes. Die Tiere des ANA-Stammes, die einen Monat lang zwangsweise Alkohol trinken mußten, wiesen im Vergleich zu Kontrollen keine Veränderung des 5-HT Gehaltes auf. Um die Verteilung von 5-HT im Gehirn darzustellen, bestimmten Ahtee u. Eriksson (1973) den Gehalt in verschiedenen Hirnregionen. Die größten Unterschiede ergaben sich für den Bereich des Hypothalamus, des Thalamus und des Mittelhirns.

Penn et al. (1978) gelang ebenfalls die Züchtung eines alkoholpräferenten und eines nichtpräferenten Rattenstammes. Die Unter-

suchung des Serotoningehaltes in verschiedenen Regionen des Gehirns bestätigte teilweise die Ergebnisse von Ahtee u. Eriksson. Die präferenten Tiere wiesen im Diencephalon und Mesencephalon nach einer "free choice situation"-Periode einen höheren 5-HT Gehalt auf. Wurden Ratten des nichtpräferenten Stammes zur Alkoholaufnahme gezwungen, stieg ihr 5-HT Gehalt im Telen-cephalon an, was sich nicht mit den Beobachtungen von Ahtee u. Eriksson (1973) deckt. Dennoch sprechen beide Untersuchungen für eine genetisch bedingte Prädisposition unter Einbeziehung des cerebralen 5-HT Stoffwechsels. Kontrovers bleibt aber die Frage, ob Alkohol auf das serotoninerge System der nichtpräferenten Ratte einen Einfluß ausübt.

5.5 Hemmstoffe der Serotonin-Biosynthese und ihre Wirkung auf die Alkoholpräferenz

Myers u. Veale (1968) erkannten zuerst die präferenzbeeinflussende Wirkung von p-Chlorphenylalanin (pCPA), einer chemischen Verbindung, die den cerebralen 5-HT Spiegel senkt. Ratten wurde während der Behandlungsperiode täglich 300 mg/kg pCPA per os verabreicht. Zur selben Zeit wurden den Versuchstieren wahlweise reines Wasser und Alkohol in täglich steigender Konzentration angeboten. Unter der pCPA Behandlung kam es zu einer ausgeprägten Abnahme der freiwillig aufgenommenen Alkoholmengen und somit auch zu einer Verminderung der Alkoholpräferenz, die über die Applikationsperiode hinaus andauerte. Parallel hierzu wurde eine andere Gruppe von Ratten mit α -Methyl-p-tyrosin (α -MpT) behandelt, einer Substanz, die das Gehirn an Brenzkatechinaminen verarmen läßt (Depletion). Dieses Pharmakon blieb ohne Einfluß auf das Präferenzverhalten der Tiere. Es wurde daher angenommen, daß das modifizierte Trinkverhalten durch einen Eingriff in den 5-HT Stoffwechsel des Gehirns verursacht worden sein könnte.

Opitz (1969) bestätigte den experimentellen Befund mit pCPA und stellte mit dem Anorektikum Fenfluramin ein weiteres Pharmakon vor, das den cerebralen 5-HT Gehalt senkt und die Vorliebe für Alkohol unterdrückt.

Frey et al. (1970) verabreichten Ratten mit Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser pCPA und konstatierten ebenfalls eine Abschwächung der Alkoholpräferenz während und nach der Behandlung.

Die Autoren erprobten darüber hinaus die präferenzbeeinflussende Wirkung von p-Chloramphetamin (pCA) und kamen bei der Anwendung einer subtoxischen Dosis (2 mg/kg) zu zwiespältigen Ergebnissen. Bei einigen Experimenten war die Alkoholpräferenz nachhaltig reduziert. Bei einem anderen Versuch folgte einer vorübergehenden Präferenzabnahme eine Zunahme der Vorliebe, während die Behandlung mit pCA in einem weiteren Experiment keine Veränderung erbrachte.

Die besprochenen Pharmaka haben eine gleichgerichtete Wirkung auf den cerebralen 5-HT Gehalt: pCPA, Fenfluramin und pCA senken den 5-HT Gehalt im Gehirn. Nach Koe u. Weissman (1966) bewirkt pCPA eine Hemmung des Enzyms Tryptophanhydroxylase und dadurch eine verminderte Serotoninbildung. Die in vivo Inhibition scheint nach Jequier et al. (1967) irreversibel zu sein, was erklärt, warum die Wirkung länger andauert als die Behandlung.

Die Wirkung von Fenfluramin auf den 5-HT Stoffwechsel im Gehirn⁺ ist nicht vollständig aufgeklärt. Nach Untersuchungen von Fuxe et al. (1975) kommt es in vitro und in vivo zu einer Freisetzung von 5-HT aus den Speichergranula und zu einer Hemmung der Wiederaufnahme des Amins in die Nervenzellen. Dieser zweizügelige Effekt könnte auch die Fenfluramin-bedingte Abnahme des 5-HIAA Gehaltes im Gehirn erklären, da nach Blaschko u. Levine (1966) Serotonin intraneuronal zu 5-HIAA desaminiert wird.

Auch pCA gehört zu den Substanzen, die die Biosynthese von 5-HT hemmen und dadurch eine lang andauernde Depletion von 5-HT und 5-HIAA bewirken (Pletscher et al., 1963; Fuller et al., 1965). Nach Sanders-Bush et al. (1972) hemmt pCA ebenso wie pCPA das Enzym Tryptophanhydroxylase. Dennoch scheint die Wirkung von pCA eher komplexer Natur zu sein, da auch eine Hemmung der

⁺ vgl. B.V. Clineschmidt et al.: Fenfluramine and brain serotonin
Ann. N.Y. Acad. Sci., 305, 222 - 241 (1978)

5-HT Aufnahme in die Nervenendigung, eine Freisetzung von 5-HT und schließlich eine Hemmung der MAO diskutiert werden. Obwohl der Wirkungsmechanismus der drei Pharmaka unterschiedlich ist, wurde die These aufgestellt, daß eine Verminderung des 5-HT Gehaltes im Gehirn der Ratte für eine Abnahme der Alkoholpräferenz verantwortlich sei (Myers u. Veale, 1968; Frey et al., 1970). Aber nicht alle Experimente mit pCPA führten zu übereinstimmenden Ergebnissen, obwohl die Wirkungsqualität der Substanz auf 5-HT als gleichbleibend angesehen werden darf.

Holman et al. (1975) wendeten ein Dosierungsschema an, das nach Koe u. Weissman (1966) eine gute serotonin-depletorische Wirkung mit einer geringen Substanzbelastung des Versuchstiers vereinigt. Nach einer Initialdosis von 316 mg/kg wurde jeden dritten Tag eine Erhaltungsdosis von 100 mg/kg per os verabreicht. Der Präferenz-Test mit steigenden Alkoholkonzentrationen wurde vor, während und nach der Applikationsperiode vorgenommen. Der freiwillige Alkoholkonsum der Ratten war nicht vermindert. Die quantitative Bestimmung von 5-HT und 5-HIAA im Gehirn ergab für Serotonin eine Verminderung des Gehaltes auf 3 - 17 % der Kontrollwerte, während der 5-HIAA Gehalt teilweise die Meßgrenze unterschritt (< 10 ng/g Gehirn).

Über eine gesteigerte(!) Alkoholpräferenz von Ratten unter dem Einfluß von pCPA berichtete Geller (1973). Die chronische Behandlung führte schließlich bei allen Versuchstieren zu erhöhtem Alkoholkonsum, nachdem bei einigen Individuen ein vorübergehender Präferenzabfall aufgetreten war. Dieses Phänomen führt Geller auf die niedrigere Dosis zurück, die von Tier zu Tier individuell zwischen 75 und 150 mg/kg schwankt und damit um die Hälfte niedriger ist als die Dosis, die Myers u. Veale (1968) applizierten. Opitz (1969) konstatierte einen Gewichtsverlust nach pCPA, der neben anderen Anzeichen die nachteilige Wirkung der Substanz auf das Allgemeinbefinden andeutet. Nachman et al. (1970) zeigten, daß Ratten von Wasser geschmacklich unterscheidbare Trinkflüssigkeiten ablehnen, wenn sie in Verbindung mit pCPA angeboten werden; auch Alkohol scheint dazuzugehören.

Demnach wäre die durch pCPA bewirkte Verminderung des freiwilligen Alkoholkonsums unspezifisch und auf das vielhundertfach beschriebene Phänomen "conditioned taste aversion" zurückzuführen⁺. Auch Fenfluramin bewirkt, wenn es nach dem erstmaligen Angebot von Alkohol- oder Saccharinlösungen einmalig verabreicht wird, eine wenigstens 12 Tage anhaltende Aversion gegen diese geschmacklich von Wasser unterscheidbaren Flüssigkeiten (Opitz, 1972).

5.6 Vorstufen des Serotonins und ihre Wirkung auf die Alkoholpräferenz

Tryptophan

Der Neurotransmitter Serotonin wird aus der Aminosäure Tryptophan gebildet, die mit der Nahrung in den Organismus gelangt. Nach Fernstrom u. Wurtman (1971) steigt der Tryptophangehalt im Gehirn mit zunehmendem Plasmaspiegel an und verursacht eine cerebrale Serotoninvermehrung. Deshalb untersuchten Sprince et al. (1972) den Einfluß des Tryptophangehaltes im Futter auf die Alkoholpräferenz der Ratte vor und nach einer Periode, in der als einzige Trinkflüssigkeit 20 %iger Äthylalkohol verfügbar war. Durch die erzwungene Alkoholaufnahme sollte die Bildung der sogenannten "alcohol addictive metabolites" begünstigt werden, deren Entstehung aus biogenen Aminen und Aldehyden gegenwärtig erforscht wird. Der freiwillige Alkoholverbrauch war gesteigert bei den Individuen, die das tryptophanreiche Futter erhielten und stieg weiter an, als die Tiere wieder Standarddiät mit geringerem Tryptophangehalt zu sich nahmen. Das Versuchsergebnis ist in sich widersprüchlich, da sowohl nach tryptophanreicher Nahrung als auch nach tryptophanärmerer Diät gesteigerter Alkoholkonsum auftrat.

Myers u. Melchior (1975) untersuchten die Auswirkungen verschiedener Tryptophangehalte im Futter auf die Alkoholpräferenz von drei verschiedenen Rattenstämmen. Weibliche Ratten des Royal-Victoria-Stammes zeigten das ausgeprägteste Präferenzverhalten bei Verfütterung der Diät, die 3 % Tryptophan enthielt.

⁺ Literaturübersicht: Riley u. Clarke (1977)

Männliche Long-Evans-Ratten reagierten auf die Tryptophanverfütterung mit einer geringfügig vermehrten Alkoholselektion, während männliche Ratten des Sprague-Dawley-Stammes keine Veränderung des Trinkverhaltens zeigten. Dieses Ergebnis veranschaulicht, daß die Alkoholpräferenz und ihre Beeinflussung abhängig ist vom jeweils verwendeten Stamm. Es ist nicht auszuschließen, daß ein genetisch bedingter Unterschied im cerebralen 5-HT-Stoffwechsel bei vermehrtem Tryptophanangebot in einigen Fällen zu einer Präferenzsteigerung führt. Da aber die cerebrale 5-HT Konzentration nicht quantifiziert wurde, ist eine definitive Aussage unmöglich.

5-Hydroxytryptophan (5-HTP)

Die systemische Applikation von 5-HTP verursacht einen Anstieg der 5-HT und 5-HIAA Konzentration im Gehirn (Bogdanski et al., 1958; Korf et al., 1974). Nach einer Einzeldosis von 50 mg/kg, die dreimal täglich intraperitoneal verabreicht wurde, konstatierten Myers et al. (1972) eine signifikante Abnahme des freiwilligen Alkoholverbrauchs, die nach der elftägigen Behandlung drei Monate lang anhält. Über einen verminderten Alkoholkonsum bei Ratten nach 5-HTP berichteten auch andere Autoren (Geller, 1973; Geller et al., 1973). Ratten mit einer Vorliebe für 2 bis 8 %igen Alkohol lehnten nach einer variierenden Dosis von 50 bis 100 mg/kg 5-HTP das alkoholhaltige Getränk in verstärktem Maße ab. Einige Tage nach der Behandlung zeigten die meisten Individuen wieder den ursprünglichen Präferenzgrad. Myers et al. (1972) applizierten 5-HTP intracranial und konnten durch diese organspezifische Applikationsart, die periphere Effekte ausschließt, den freiwilligen Alkoholkonsum reduzieren. Diese Ergebnisse widersprechen exakt der These, daß nach einer cerebralen Serotonindepletion der freiwillige Alkoholkonsum vermindert ist und stützten die gegenteilige Annahme, daß ein funktioneller 5-HT Anstieg für das veränderte Trinkverhalten verantwortlich ist.

5.7 Wirkung des Serotonins auf die Alkoholpräferenz

Die Bedeutung von Serotonin für das Alkohol-ingestive Verhalten wird durch ein Experiment unterstrichen, das von Hill (1974)

beschrieben wurde. Über eine implantierte Kanüle wurde Serotonin in den lateralen Hirnventrikel infundiert. Bei Dosen von 50 und 100 μg 5-HT stellte sich eine Abnahme der Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser ein, während eine 25 μg -Dosis keine Wirkung hatte. Obwohl 5-HT rasch abgebaut wird, konnte durch die intracraniale Injektion nachgewiesen werden, daß diesem Neurotransmitter eine gewisse Wirkungsspezifität in bezug auf das Phänomen "alcohol drinking" zukommt.

In dieses Bild paßt die Beobachtung, daß eine cerebrale Serotonin-depletion bei der Ratte gesteigerte Alkoholselektion auslösen kann. Baumgarten et al. (1971) erkannten, daß 5,6-Dihydroxytryptamin (5,6-DHT) eine lang andauernde 5-HT Verminderung im Gehirn verursacht. Dieser Effekt scheint spezifisch auf 5-HT gerichtet zu sein und kommt offenbar durch eine chemische Läsion serotoninerger Neurone zustande. Nach intracranialer Applikation dieser Substanz zeigen Ratten nach vorliegenden Untersuchungen eine gesteigerte Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser (Ho et al., 1974; Myers u. Mechior, 1975; Ho u. Kissin, 1976). Dieses Verhalten steht allerdings im Gegensatz zu einer abgeschwächten Alkoholpräferenz nach Verabreichung des 5-HT Depletors p-Chlorphenylalanin (pCPA), doch hierbei handelt es sich wie gesagt wahrscheinlich um einen unspezifischen Effekt.

6. Experimenteller Teil II

6.1 Einführung zu den Experimenten III und IV

Nach den vorliegenden Publikationen wurden Unterschiede im cerebralen 5-HT Gehalt bei Ratten konstatiert, denen das Merkmal der Alkoholpräferenz oder der Alkoholaversion über einige Generationen hinweg angezüchtet worden war. Nach Ahtee u. Eriksson (1972) weisen Ratten mit einer genetisch bedingten Vorliebe für 10 %igen Alkohol (v/v) einen höheren cerebralen Serotoninspiegel auf als Tiere, die diese Flüssigkeit ablehnen. In Verbindung mit freiwilligem Alkoholkonsum steigt bei AA-Individuen 5-HT weiter an. Dies mag als ein Indiz dafür angesehen werden, daß der cerebrale 5-HT Stoffwechsel und die Vorliebe für Alkohol miteinander verknüpft sind. Der tägliche Alkoholverbrauch der Mitglieder einer Rattenpopulation variiert aber innerhalb gewisser Grenzen. Eine Ratte, die täglich nahezu ausschließlich Alkohol zu sich nimmt, wird als stärker alkoholpräferent eingestuft als ein Tier, das einen größeren Teil seines Flüssigkeitsbedarfs durch reines Trinkwasser deckt. Bisher ist noch nicht untersucht worden, ob dem individuellen Grad der Alkoholpräferenz auch ein individueller 5-HT level im Gehirn entspricht; wir haben das wie folgt getan.

6.2 Experiment III

Methode

Drei Monate lang wurden einer Gruppe weiblicher Wistar-Ratten ($n = 23$) wahlweise reines Wasser und eine 5 %ige Äthanollösung (g/g) angeboten (Haltungsbedingungen wie unter Experiment I beschrieben). Während der letzten vier Tage des Experiments wurde der Flüssigkeitsverbrauch registriert, um das Präferenzverhalten der Tiere beurteilen zu können. Aus der Gruppe wurden acht Ratten mit unterschiedlicher Alkoholpräferenz selektiert und durch Dekapitieren tierschutzgerecht getötet. Die Gehirne wurden rasch entfernt, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei minus 20°C eingelagert. Der Gehalt an Serotonin und 5-Hydroxyindolessigsäure wurde fluoreszenzphotometrisch ⁺

⁺ s. Anhang

bestimmt (Giacalone u. Valzelli, 1969; Curzon u. Green, 1970). Zur Darstellung der Zusammenhänge wurde der durchschnittliche Alkoholkonsum ermittelt und für jedes einzelne Versuchstier als prozentualer Anteil an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeit berechnet. Die Prozentzahlen wurden mit den 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen ($\mu\text{g/g}$ Gehirn) der Individuen unter Berechnung des Korrelationskoeffizienten verglichen.

Ergebnisse

Wie die graphische Darstellung in Abb. 11 zeigt, besteht zwischen dem Grad der Präferenz - ermittelt durch den freiwilligen Alkoholkonsum in Gegenwart von reinem Wasser - und den ermittelten 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen offensichtlich ein Zusammenhang. Der Kurvenverlauf deutet an, daß Ratten mit ausgeprägter Vorliebe für Alkohol im Gehirn erhöhte Serotoninkonzentrationen aufweisen, während der 5-HIAA Gehalt mit zunehmender Alkoholpräferenz abnimmt. Die statistische Berechnung ergab in beiden Fällen signifikante Korrelationen mit Werten von $r = +0,81$ für 5-HT und $r = -0,85$ für 5-HIAA ($p < 0,01$).

Diskussion

Läßt man Ratten während eines längeren Zeitraumes zwischen Wasser und 5 %igem Alkohol wählen, so ergibt sich offenbar ein Zusammenhang zwischen der freiwillig gewählten täglichen Alkoholmenge und dem nachher ermittelten cerebralen 5-HT Spiegel eines jeden Individuums. Voraussetzung scheint zu sein, daß die Konzentration des bereitgestellten Alkohols einerseits so hoch ist, daß auch ausgeprägt präferente Tiere einen Teil ihres Flüssigkeitsbedarfs aus der Wasserflasche decken, andererseits aber weniger präferente Tiere durch den Geschmack noch nicht vom Alkoholkonsum abgeschreckt werden. Die ermittelte Korrelation weist für 5-HT ein positives, für 5-HIAA ein negatives Vorzeichen auf, d. h. mit steigender Alkoholpräferenz nimmt der 5-HT Gehalt zu, der 5-HIAA Gehalt aber ab. Diese Korrelationsbeziehung stützt als ein gewichtiges Indiz die Annahme, daß zwischen der Alkoholpräferenz und dem Serotoninstoffwechsel eine Verknüpfung besteht.

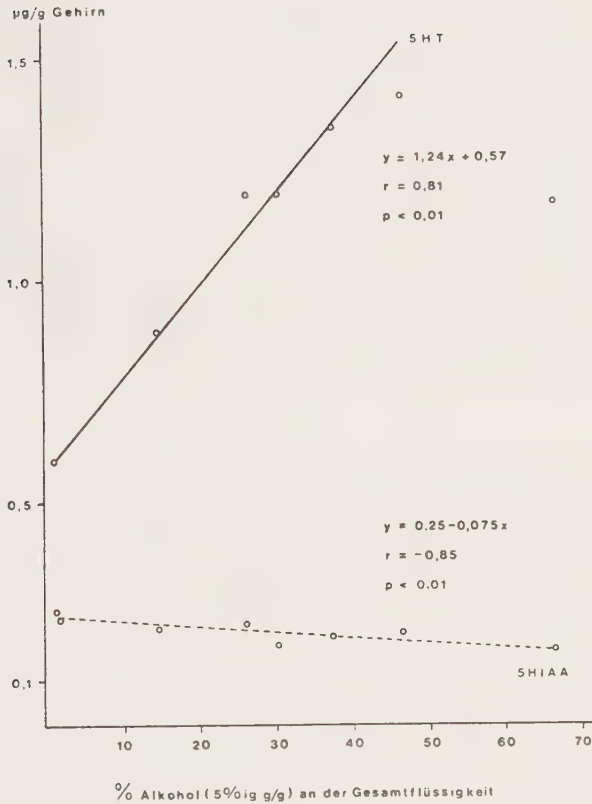


Abb. 11: Korrelation zwischen 5-HT bzw. 5-HIAA (µg/g, Frischgewicht) im Gehirn weiblicher Ratten und dem Grad der Alkoholpräferenz, ermittelt durch gleichzeitiges Angebot von 5 %iger Alkohollösung und Wasser. Der individuelle Präferenzgrad wurde für jedes Versuchstier durch Berechnung des prozentualen Anteils der Alkohollösung an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch) ermittelt.

Die Ergebnisse der Untersuchung informieren nicht nur über die statischen Verhältnisse des cerebralen 5-HT Stoffwechsels, sondern auch über Veränderungen der Dynamik, wobei der turnover beim präferenten Tier verlangsamt zu sein scheint. Folglich kommt es im Vergleich zum nichtpräferenten Tier zu einer 5-HT Vermehrung bzw. zu einer 5-HIAA Verminderung. Eine Erklärung hierfür liefern Untersuchungen von Feldstein u. Siedel (1969), die nach i.p. Injektion von 6 g/kg Äthanol eine leichte Aktivitätsabnahme der Monoaminoxidase (MAO) bei der Ratte festgestellt haben. Als Ursache wird eine kompetitive Hemmung der Aldehyddehydrogenase diskutiert, wobei der Acetaldehyd als Metabolit des Äthylalkohols und 5-Hydroxyindolacetaldehyd als Metabolit des Serotonins um die aktiven Zentren des Enzyms konkurrieren sollen.

Anlage und Ergebnisse des beschriebenen Tierexperimentes lassen nicht erkennen, ob der freiwillig aufgenommene Äthylalkohol selbst den 5-HT Stoffwechsel im Gehirn verändert oder ob eine alkoholpräferente Ratte a priori einen abweichenden cerebralen 5-HT Stoffwechsel aufweist. Ein weiteres Experiment sollte daher die Frage klären, ob Äthanol bei der Ratte, die alkoholhaltiges Trinkwasser ablehnt und reines Wasser bevorzugt, bei erzwungener Alkoholaufnahme eine Vermehrung des cerebralen Serotonins verursacht, oder ob sich bei der alkoholliebenden Ratte abweichende 5-HT Konzentrationen im Gehirn feststellen lassen, wenn das Tier vor der biochemischen Untersuchung ausschließlich reines Trinkwasser erhält.

6.3 Experiment IV

Methode

Zwanzig weiblichen Wistar-Ratten wurden fünf Tage lang reines Wasser und eine 3 %ige Lösung von Äthylalkohol (g/g) zur Wahl angeboten. Um das Präferenzverhalten der Tiere zu bestimmen, wurde der Flüssigkeitsverbrauch täglich registriert. Es zeigte sich, daß vier Tiere der alkoholhaltigen Trinkflüssigkeit in hohem Maße zusprachen. Diese Tiere erhielten während der darauffolgenden 72 Stunden ausschließlich reines Wasser (alkoholprä-

ferent = AP). Umgekehrt wurden vier Individuen, die reines Trinkwasser bevorzugten, als nichtpräferent eingestuft und 72 Stunden lang gezwungen, alkoholhaltiges Wasser (3 %ig; g/g) zu trinken. Als Kontrollen für die fluoreszenzphotometrische Serotoninbestimmung wurden Tiere ausgewählt, die am Ende der Testperiode keine Alkoholpräferenz gezeigt hatten. Ihnen wurden bis zum Versuchsende wahlweise beide Trinkflüssigkeiten angeboten (nichtpräferente Kontrollen = NP-K). Die Tiere wurden dekapitiert, die Gehirne entfernt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur Quantifizierung von 5-HT und 5-HIAA wurden die Organpräparate bei -20°C eingelagert. Diese Arbeitstechnik wurde bei den übrigen Experimenten beibehalten.

Ergebnisse

Wie aus Abb. 12 ersichtlich, tranken die als präferent eingestuften Tiere nahezu ausschließlich 3 %igen Alkohol, während die nichtpräferenten Ratten von Tag zu Tag weniger Alkohol aufnahmen und am fünften Tag überhaupt keinen Alkohol mehr tranken. Die Mittelwerte für 5-HT und 5-HIAA sind in Tabelle I und in Abb. 12 dargestellt ($\mu\text{g/g}$ Gehirn, Frischgewicht; $\bar{x} \pm s_x$; $n = 4$).

Tabelle I

	5-HT	5-HIAA
AP (n = 4)	$0,37 \pm 0,03^+$	$0,22 \pm 0,02$
NP (n = 4)	$0,24 \pm 0,01^+$	$0,16 \pm 0,04$
NP-K (n = 4)	$0,27 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,08$
		$^+ p < 0,05$

Der cerebrale 5-HT Gehalt war bei den alkoholpräferenten Ratten um etwa 30 % höher als bei den nichtpräferenten Tieren (NP) und den Individuen, die den Alkohol ebenfalls ablehnten, jedoch zwischen Wasser und Alkohol wählen konnten (NP-K). Der Student's t-Test wies das Ergebnis als statistisch signifikant aus ($p < 0,05$).

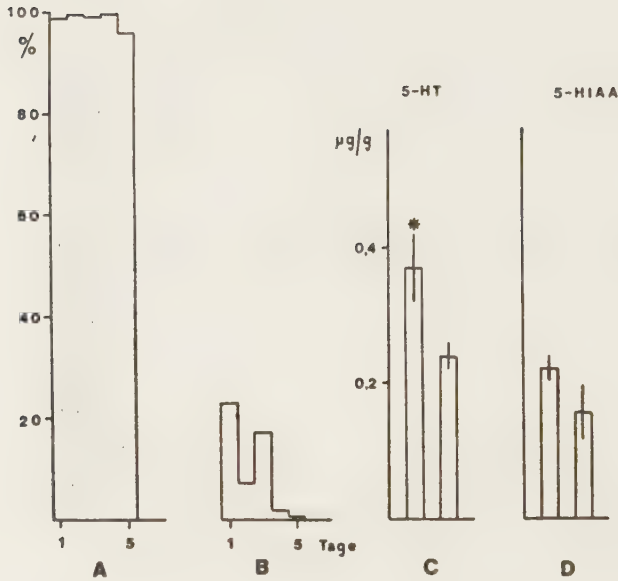


Abb. 12: Prozentualer Anteil einer 3 %igen Alkohollösung (g/g) an der täglichen Gesamtflüssigkeitsaufnahme (Summe aus den verbrauchten Alkohol- und Wassermengen in Gramm), ermittelt für weibliche Ratten mit spontaner Vorliebe (Fig. A; Mittelwerte von 4 Versuchstieren) bzw. spontaner Aversion (Fig. B; Mittelwerte von 4 Versuchstieren) für verdünnten Alkohol. Fig. C zeigt den durchschnittlichen 5-HT Gehalt ($\bar{x} \pm s_x$) im Gehirn der alkoholpräferenten Tiere (linker Balken; $n = 4$) nach dreitägiger Alkoholabstinenz im Vergleich zu den nichtpräferenten Individuen ($n = 4$) nach dreitägigem Alkoholzwang. In Fig. D sind die entsprechenden Werte für 5-HIAA dargestellt.

Der cerebrale 5-HIAA Gehalt der alkoholpräferenten Tiere war im Vergleich zu den nichtpräferenten Individuen um etwa 32 % erhöht. Der t-Test ergab nur für den Unterschied zwischen der AP Gruppe und der NP Gruppe eine statistische Signifikanz ($p = 0,05$); für die NP-K Gruppe wurde sie knapp verfehlt.

Diskussion

Auch dieses Untersuchungsergebnis ist als ein Indiz für die Annahme anzusehen, daß tatsächlich Unterschiede im Hirnstoffwechsel von alkoholpräferenten und nichtpräferenten Individuen bestehen. Die aktuelle Serotoninkonzentration im Gehirn der alkoholpräferenten Tiere lag um 30 % höher, obwohl während der letzten drei Tage kein Alkohol zur Verfügung stand. Diese Resultate befinden sich in Übereinstimmung mit denen von ähnlichen experimentellen Untersuchungen (Ahtee u. Eriksson, 1972, 1973; Penn et al., 1978). Andererseits führte die erzwungene Alkoholaufnahme bei Ratten mit einer Aversion gegen diese Flüssigkeit nicht zu Veränderungen des cerebralen Serotoninspiegels. Auch Ahtee u. Eriksson (1972) konstatierten, daß der 5-HT level sich nicht verändert, wenn nichtpräferente Individuen einen Monat lang zwangsweise 10 %igen Alkohol trinken mußten. Diese Beobachtung wurde von Penn et al. (1978) allerdings nicht bestätigt. Nach einwöchigem Alkoholzwang wiesen Ratten ihres nichtpräferenten Stammes im Bereich des Diencephalon/Mesencephalon erhöhte 5-HT Werte auf. Ein Vergleich der unterschiedlichen Befunde ist nur mit Einschränkungen möglich, da die neurochemischen Veränderungen zeitabhängig sein können. Die 5-HIAA Werte der drei Versuchstiergruppen verhalten sich wie die Serotoninwerte: Einem erhöhten 5-HT Gehalt entspricht auch eine gesteigerte 5-HIAA Konzentration, was zu den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren paßt (Ahtee u. Eriksson, 1972; Penn et al., 1978). Es besteht allerdings eine Abweichung zu unserer Aussage, daß mit zunehmendem Präferenzgrad ein abnehmender 5-HIAA Gehalt korreliert, wobei aber ein verfahrenstechnischer Unterschied zwischen den beiden Untersuchungen berücksichtigt werden muß. Während die Ratten des zuvor beschriebenen Experiments in der "free choice situation" ihre Trinkgewohnheiten etablieren und bis zum Ende des Experimentes beibehalten konnten, wurden im nachfolgenden

Versuch die "non preferers" zur Alkoholaufnahme gezwungen, während den "preferers" drei Tage lang ausschließlich Wasser angeboten wurde. Es ist denkbar, daß erst die Präsenz von Äthylalkohol im ZNS der präferenten Tiere eine Modulation des Serotoninstoffwechsels bewirkt, die durch einen verminderten 5-HIAA Gehalt gekennzeichnet ist.

Eine geringe Alkoholdosis scheint auf die aktuelle 5-HT Konzentration der nichtpräferenten Ratte keinen Einfluß auszuüben. Bei Ratten mit einer ausgeprägten Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser bedingt chronischer Alkoholkonsum nach Ahtee u. Eriksson (1973) eine weitere Erhöhung des 5-HT Spiegels, die im Bereich des Hypothalamus, des Thalamus und des Mesencephalon besonders ausgeprägt erscheint. Dies mag erklären, weshalb einige Autoren nach akuter Alkoholapplikation einen unveränderten 5-HT Spiegel vorfanden (Pscheidt et al., 1961; Efron und Gessa, 1961, 1963), andere Autoren aber über eine Elevation des cerebralen Serotonins berichteten (Bonnycastle et al., 1962, Palaic et al. 1971). Es hat den Anschein, daß für Experimente dieser Art eine Differenzierung zwischen Individuen eines Stammes mit Vorliebe für Alkohol und solchen mit Alkoholaversion unerläßlich ist, da die neurochemischen Unterschiede bereits bestehen, obwohl eine züchterische Selektion des einen oder anderen Merkmals nicht stattgefunden hat.

Um die Spezifität des serotoninergeren Neurotransmittersystems bei der Regulation der Alkoholpräferenz zu ermitteln, wurde u.a. der Einfluß des "precursors" 5-Hydroxytryptophan erforscht. Diese Substanz ist ein Zwischenprodukt des Serotoninstoffwechsels, das durch enzymatische Decarboxylierung in Serotonin umgewandelt wird. Diese chemische Reaktion spielt sich nicht nur im ZNS, sondern auch in der Peripherie ab. Da 5-HTP die Blut-Hirn-Schranke überwindet, kann durch systemische Applikation erreicht werden, daß der cerebrale Serotoningehalt ansteigt (Bogdanski et al., 1958; Korf et al., 1974). Bei der Ratte führt die Verabreichung von 5-HTP zu einer Verminderung der freiwilligen Alkoholaufnahme. Während Geller (1973) DL-5-HTP in einer vergleichsweise geringen Dosis anwendete (chronische

Behandlung mit 50 mg/kg 5-HTP intraperitoneal), applizierten Myers et al. (1972) dreimal täglich eine Einzeldosis von 50 mg 5-HTP pro kg Körpergewicht. In beiden Fällen wurde bei den Versuchstieren dieselbe Wirkung erzielt: Die Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser nahm während der Behandlung von 5-HTP ab. Dieser Effekt überdauerte nach Myers et al. (1972) die Applikationsperiode drei Monate lang, während Geller bei den Versuchstieren nach einigen Tagen einen "Rückfall" in die ursprünglichen "Trinkgewohnheiten" feststellte.

Auch in unserem Laboratorium wurde die Beeinflussung der Alkoholpräferenz durch 5-HTP untersucht. Von besonderem Interesse waren die erwarteten Auswirkungen einer weiteren Steigerung des 5-HT levels im Gehirn der alkoholpräferenten Ratte auf das Präferenzverhalten. Wenn Serotonin im ZNS der alkoholpräferenten Ratte vermehrt ist - es gibt gute Gründe für diese Annahme - muß dann nicht eine Senkung des 5-HT Spiegels zu einer Präferenzabnahme führen? Oder würde gerade eine weitere Serotoninvermehrung eine Aversion auslösen?

6.4 Experiment V

Methode

Als Versuchstiere dienten - wie auch bei den übrigen Experimenten - 20 weibliche Wistar-Ratten (SPF) aus der Züchterei Winkelmann, deren mittleres Körpergewicht zu Versuchsbeginn 208 g betrug. Die Tiere wurden einzeln in Makrolonkäfigen gehalten und erhielten handelsübliches Pelletfutter (Altromin R) ad libitum. Die Induktion der Alkoholpräferenz erfolgte nach der Methode des Experimentes II b. Aus dem Kollektiv wurden 16 Tiere ausgewählt, deren Vorliebe für 3 %igen Äthylalkohol (g/g) am stärksten ausgeprägt war. Die Gehirne der verbleibenden vier Ratten wurden für die Quantifizierung von 5-HT und 5-HIAA benötigt. Zur Prüfung der Alkoholpräferenz diente die "two choice, three bottle-rotating method" (s.o.). Nach einer Vorperiode wurden zwei Gruppen mit je acht Tieren gebildet. Eine Gruppe wurde acht Tage lang mit 30 mg/kg L-5-HTP (Fluka Nr. 56570) be-

handelt, während die Kontrollen gleiche Mengen des Vehikels erhielten. Da 5-HTP bei neutralem pH schlecht wasserlöslich ist, wurde als Lösungsvermittler Pluronic F 68 (C.H. Erbslöh, Kaistraße 5, 4000 Düsseldorf 1) eingesetzt. In 5 ml Pluronic F 68 Lösung 2,5 % (g/v) wurden 30 mg 5-HTP aufgelöst. Der pH-Wert der Lösung lag zwischen 5,5 und 6,0. Vom siebten Behandlungstag an wurde die Dosis auf 60 mg/kg 5-HTP heraufgesetzt. Die Substanz und das Vehikel wurden intraperitoneal appliziert. Der Alkohol- und Wasserverbrauch der Tiere wurde täglich registriert. Am letzten Versuchstag wurden die Tiere 3,5 Stunden nach der letzten Applikation dekapitiert. Die Gehirne wurden rasch entfernt, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur quantitativen Analytik bei -20°C gelagert. Die fluoreszenzphotometrische Bestimmung erfolgte wie oben beschrieben.

Ergebnisse

Während der Vorperiode tranken die acht Ratten der Behandlungsgruppe in 24 Stunden durchschnittlich 22,5 g 3 %igen Alkohol, entsprechend 3,2 g reinem Alkohol pro kg Körpergewicht. Die acht Kontrolltiere nahmen täglich 23,5 g 3 %igen Alkohol auf, entsprechend 3,4 g reinem Alkohol pro kg Körpergewicht. Im Verlauf der Behandlung mit 30 mg 5-HTP pro kg Körpergewicht blieb der tägliche Alkoholverbrauch der beiden Tiergruppen weitgehend konstant (behandelte Tiere: 3,32 g/kg; Kontrollen: 3,24 g/kg). Unter der Applikation von täglich 60 mg/kg 5-HTP stellten sich Veränderungen im Trinkverhalten der behandelten Tiere ein: Der freiwillige Alkoholverbrauch stieg auf 26,9 g 3 %igen Alkohol an, entsprechend 3,85 g/kg reinem Alkohol pro kg Körpergewicht. Aber auch beim Gesamtflüssigkeitsverbrauch war ein Zuwachs zu verzeichnen: Während der Vorperiode tranken die Ratten der behandelten Gruppe durchschnittlich 111,4 g/kg Flüssigkeit. Unter der Behandlung mit 60 mg/kg 5-HTP betrug der tägliche Gesamtflüssigkeitsverbrauch 131,9 g, was einen Zuwachs von 18,4 % bedeutet. Die Abbildungen 13 bis 15 zeigen die täglichen Verbrauchswerte der Behandlungs- und der Kontrollgruppe vor und während der Applikation von zunächst 30 mg/kg, später 60 mg/kg 5-HTP.

Zur Berechnung statistischer Signifikanzen wurden die Zahlenwerte der Behandlungsgruppe mit denen der Kontrolle mit Student's

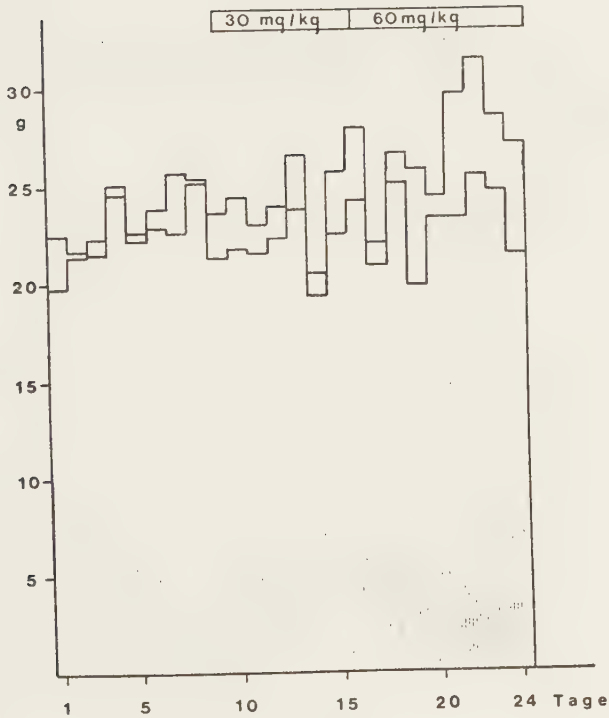


Abb. 13: Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten (30 mg/kg an Tag 9 bis 16; 60 mg/kg an Tag 17 bis 24). Dargestellt sind die Mittelwerte der täglich aufgenommenen Mengen der Alkohollösung (3 %ig; g/g) in Gramm pro Tier für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und für die Kontrollgruppe ($n = 8$). L-5-Hydroxytryptophan wurde mittels Pluronic F 68 (2,5 %ig g/v) in Lösung gebracht und den Versuchstieren intraperitoneal injiziert; die Kontrolltiere erhielten gleiche Mengen des Vehikels.

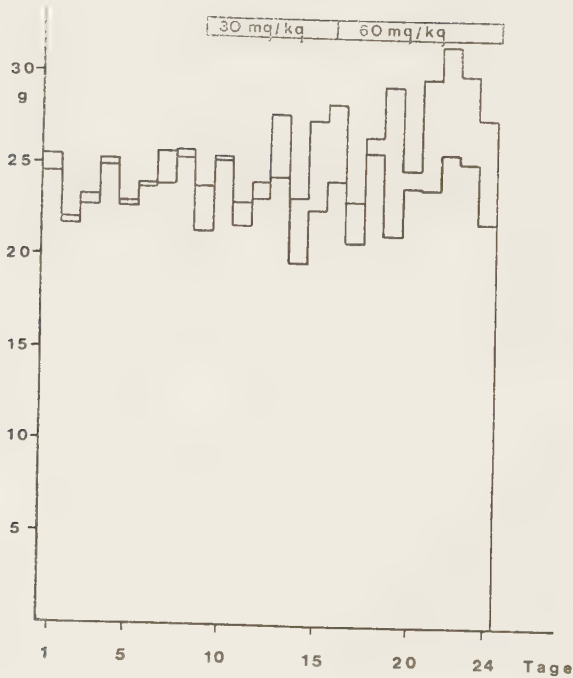


Abb. 14: Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan auf die tägliche Gesamtflüssigkeitsaufnahme in Gramm pro Tier, die aus der Summe des Verbrauchs an reinem Wasser und an 3 %igem Alkohol (g/g) in Gramm ermittelt wurde. Dargestellt sind die Mittelwerte für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$), die an Tag 9 - 16 mit 30 mg/kg und an Tag 17 bis 24 mit 60 mg/kg L-5-Hydroxytryptophan i.p. behandelt wurde. Die Kontrolltiere ($n = 8$) erhielten gleiche Mengen des Vehikels. Näheres s. Legende zu Abb. 13.

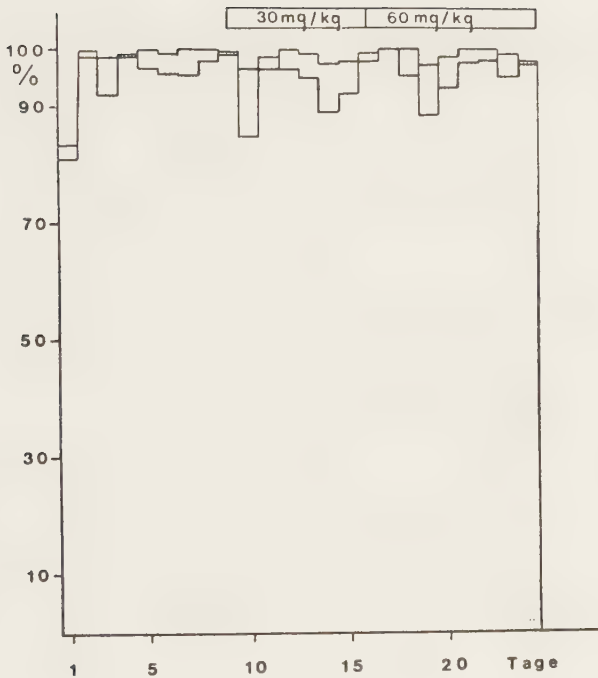


Abb. 15: Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (3 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch) für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und für die Kontrollgruppe ($n = 8$). Näheres s. Legende zu Abb. 13.

t-Test verglichen. Statistische Signifikanzen wurden für den Verbrauch an 3 %igem Alkohol ($p < 0,02$) und an reinem Alkohol in Gramm pro Kilogramm Körpergewicht während der Applikation von 60 mg/kg 5-HTP ermittelt. Die Zunahme des Gesamtflüssigkeitsverbrauchs erwies sich ebenfalls als statistisch signifikant ($p' < 0,01$). Der prozentuale Anteil des Alkohols am Gesamtflüssigkeitsverbrauch lag für die behandelte Gruppe bei 97,5 % und für die Kontrollen bei 97,3 %. Die Entwicklung des Körpergewichts verlief während der einzelnen Perioden weitgehend unauffällig.

Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von 5-HT und 5-HIAA im Ganzhirn der behandelten Tiere und der Kontrollen sind in Tabelle II und in den Abbildungen 19 und 20 dargestellt ($\mu\text{g/g}$ Gehirn, Frischgewicht; $\bar{x} \pm s_x$).

Tabelle II

	5-HT	5-HIAA
60 mg/kg 5-HTP (n = 8)	$0,52 \pm 0,10 \mu\text{g/g}^+$	$0,91 \pm 0,25 \mu\text{g/g}^{++}$
Kontrollen (n = 8)	$0,41 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,04$
	$\begin{array}{cc} + p < 0,025 & ++ p < 0,001 \end{array}$	

Der Serotoningehalt war 3,5 h nach Applikation von 60 mg/kg 5-HTP statistisch signifikant erhöht ($p < 0,025$). Auch die 5-HIAA Werte der behandelten Tiere lagen deutlich über denen der Kontrollen ($p < 0,001$). Der 5-HT Gehalt war dabei um den Faktor 1,3, der HIAA Gehalt um den Faktor 6,3 höher als bei den Kontrolltieren.

Diskussion

Der precursor des Serotonins, L-5-Hydroxytryptophan verursacht in einer Dosis von 30 mg pro kg Körpergewicht offenbar keine

Veränderung des freiwilligen Alkoholverbrauchs. Sowohl die Gesamtlüssigkeitsaufnahme als auch der tägliche Alkoholkonsum - bezogen auf die 3 %ige Lösung und auf absoluten Alkohol - blieben unverändert. Nach einer Verdoppelung der applizierten Dosis tranken die Ratten im Vergleich zu den vorangegangenen Versuchsperioden zwar absolut betrachtet mehr Alkohol. Da aber der Gesamtlüssigkeitskonsum im selben Umfang zunahm wie der Alkoholkonsum, blieb der prozentuale Anteil des Alkohols praktisch konstant. 5-HTP verursachte in der höheren Dosierung einen vermehrten Flüssigkeitsbedarf, den die Versuchstiere durch gesteigerte Aufnahme des bevorzugten Alkohols deckten. Dabei blieb das Verhältnis zwischen den beiden unterschiedlichen Flüssigkeiten unverändert, so daß eine Beeinflussung der Vorliebe für Alkohol durch 5-HTP nicht stattgefunden hat.

Die Ergebnisse der 5-HT Bestimmung bestätigen, daß die systemische Verabreichung von 5-HTP den 5-HT Gehalt im ZNS ansteigen läßt (Bogdanski et al., 1958, Korf et al., 1974), was offenbar als Folge einer gesteigerten Aktivität des decarboxylierenden Enzyms anzusehen ist. Damit ist aber die Reaktion des cerebralen Serotoninstoffwechsels auf die Überflutung des Organismus mit 5-HTP aber keineswegs erschöpft. Synthetisiertes Serotonin wird vielmehr verhältnismäßig rasch zum Endprodukt 5-HIAA umgewandelt, wofür die Konzentrationserhöhung um das Sechsfache der Kontrollwerte spricht. Als denkbare Ursache kommt auch eine Überlastung des Transportmechanismus in Frage, der die Säure aus dem Gehirn in die Blutbahn befördert.

Die Beobachtung, daß eine Vermehrung des cerebralen Serotonins ohne nennenswerte Auswirkungen auf die Alkoholpräferenz bleibt, entspricht nicht den Feststellungen von Geller (1973), obwohl 5-HTP in einer ähnlichen Dosierung angewendet wurde. Um die Vorliebe für Alkohol zu unterdrücken, verwendeten Myers et al. (1972) die dreifache 5-HTP Dosis, die auf drei Applikationen pro Tag verteilt wurde (150 mg pro kg und Tag). In Verbindung mit dem relativ geringen Unterschied im Serotoningehalt der unterschiedlich behandelten Gruppen besteht Grund zu der Annahme, daß 5-HTP bereits innerhalb weniger Stunden zu 5-HIAA metabolisiert wird

und daß intermediär gebildetes Serotonin keine Funktion als Neurotransmittersubstanz ausübt. Es ist auch denkbar, daß 5-HT einer enzymatischen Inaktivierung unterworfen ist, bevor jene Gewebsstrukturen im Gehirn erreicht werden, die als präferenzbestimmend angesehen werden müssen, deren Lokalisation aber gegenwärtig noch nicht aufgeklärt ist. Über eine abnorme regionale Verteilung von 5-HT im Gehirn nach Verabreichung von 5-HTP berichten Moir u. Eccleston (1968). Zur endgültigen Klärung bedarf es weiterer Untersuchungen der biochemischen und pharmakodynamischen Gegebenheiten im ZNS nach externer Zufuhr von Neurotransmittervorstufen.

Die Decarboxylierung von 5-HTP ist nicht auf das ZNS beschränkt, da das verantwortliche Enzymsystem auch in der Peripherie verbreitet ist. Daher wird 5-HTP vermutlich bereits partiell metabolisiert, bevor ein Teil der applizierten Dosis ins ZNS gelangt. Um den peripheren Abbau einzuschränken, schien daher die Verwendung eines peripher wirksamen Decarboxylase-Hemmers in Kombination mit 5-HTP angezeigt. Ein Pharmakon mit dieser Eigenschaft ist Benserazid-HCl (Ro 4-4602/1), das bei der Therapie des Morbus Parkinson in Verbindung mit L-Dopa eingesetzt wird und in dem Handelspräparat Madopar^R enthalten ist.

6.5 Experiment VI

Methode

Bei 20 weiblichen Wistar-Ratten (SPF) mit einem mittleren Körpergewicht von 204 g bei Versuchsbeginn wurde nach Methode II b Präferenz für 3 %igen Äthylalkohol (g/g) induziert. Im Anschluß an die Induktionsperiode standen den Tieren wahlweise Leitungswasser und 3 %iger Äthylalkohol (g/g) als Trinkflüssigkeiten zur Verfügung. Nach der Vorperiode zur Prüfung der Vorliebe für Alkohol wurden zwei Kollektive mit je acht Tieren gebildet. Die Behandlungsgruppe erhielt 10 Tage lang 60 mg/kg L-5-Hydroxytryptophan in Kombination mit dem Decarboxylase-Hemmer Ro 4-4602/1 (Benserazid-HCl). Die Kontrollgruppe wurde ausschließlich mit Benserazid-HCl behandelt (50 mg/kg). Die Substanzen wurden unmittelbar vor der Applikation in einer 2,5 %igen Pluronic F 68

Lösung aufgelöst. Die Verabreichung erfolgte intraperitoneal zwischen 15.30 und 16.00 Uhr. Der Alkohol- und der Wasserverbrauch wurden täglich registriert. Am letzten Versuchstag wurden die Tiere zwecks Quantifizierung von 5-HT und 5-HIAA 2,5 Stunden nach der letzten Behandlung dekapitiert.

Ergebnisse

Der tägliche Alkoholkonsum (3 %ig) betrug im Verlauf der Vorperiode bei der Behandlungsgruppe 28,7 g, bei der Kontrollgruppe 26,1 g, entsprechend 4,3 g bzw. 3,95 g reinem Alkohol pro kg Körpergewicht. Unter der Behandlung mit der Wirkstoffkombination 5-HTP plus Benserazid-HCl sank der Alkoholverbrauch auf 26,1 g, entsprechend 3,4 g reinem Alkohol pro kg. Die Kontrolltiere tranken im Verlauf der Behandlung mit Benserazid-HCl geringfügig mehr 3 %igen Alkohol und - bezogen auf das Körpergewicht - etwas weniger absoluten Alkohol (3,56 g/kg). Der t-Test klassifiziert diese Unterschiede als nicht signifikant, was bedeutet, daß sich die absoluten Verbrauchswerte für 3 %igen Alkohol während der Applikationsperiode nicht verändert hatten.

Ganz anders sieht das Resultat aus, wenn man den Gesamtflüssigkeitsverbrauch berücksichtigt und die relativen Trinkmengen ermittelt. Der tägliche Flüssigkeitsbedarf stieg während der Behandlung mit der Wirkstoffkombination von durchschnittlich 34 g in der Vorperiode auf 43 g pro Tier in der Applikationsperiode an. Benserazid-HCl allein führte nicht zu vermehrtem Flüssigkeitsverbrauch. Der t-Test charakterisiert den Unterschied als signifikant ($p < 0,001$). Folglich vermindert sich der prozentuale Anteil des 3 %igen Alkohols am Gesamtflüssigkeitsverbrauch. Tranken die Ratten der Behandlungsgruppe in der Vorperiode noch zu 84 % Alkohol, so sank der Anteil auf durchschnittlich 59 % während des neuntägigen Behandlungszeitraumes ab. Durch Benserazid-HCl allein trat keine Umstellung des Präferenzverhaltens ein (Vorperiode: 85 %; Behandlungsperiode 82,5 %). Wie aus Abb. 18 ersichtlich, nimmt die Alkoholpräferenz allmählich ab und sinkt nach der siebten Behandlung unter die 50-Prozentmarke. Die übrigen Versuchsergebnisse sind in den Abbildungen 16 bis 18 dargestellt.

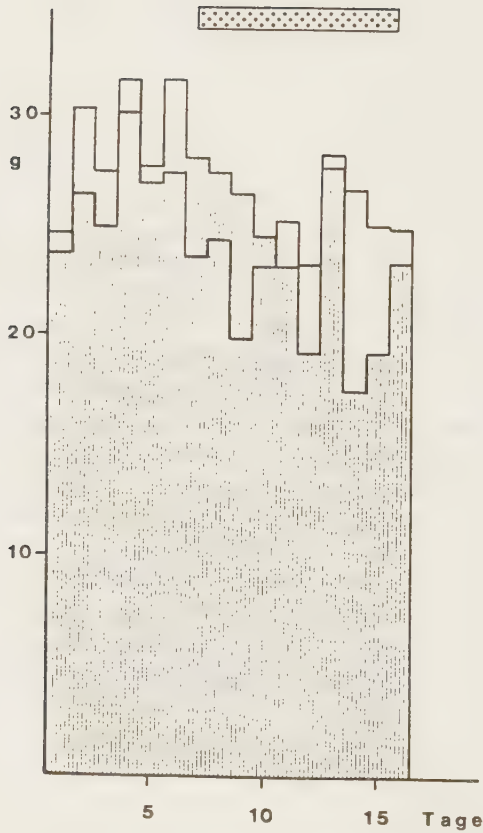


Abb. 16: Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan und von Ro 4-4602/1 auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte der täglich aufgenommenen Alkohollösung (3 %ig; g/g) in Gramm pro Tier. Einer Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) wurden beide Substanzen appliziert (L-5-Hydroxytryptophan 60 mg/kg plus Ro 4-4602/1 50 mg/kg i.p. an Tag 7 bis 16), während die zweite Gruppe im gleichen Zeitraum ausschließlich mit Ro 4-4602/1 in gleicher Dosis behandelt wurde.

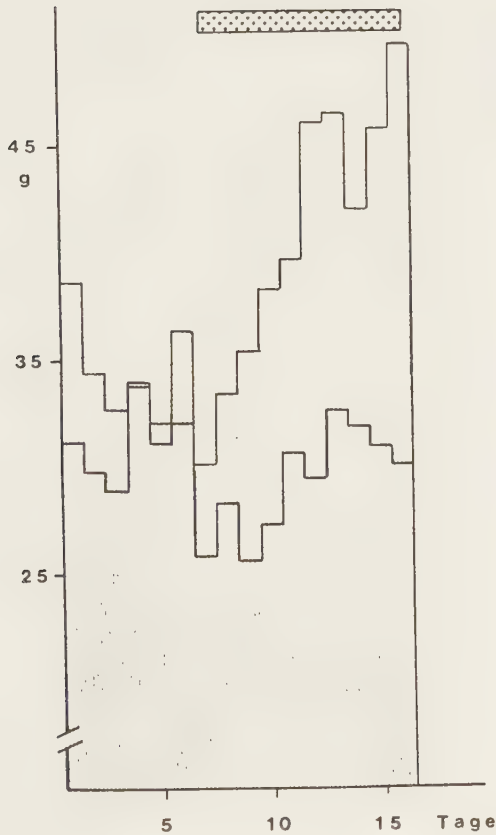


Abb. 17: Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan und von Ro 4-4602/1 auf die tägliche Gesamtflüssigkeitsaufnahme, die aus der Summe des Verbrauchs an reinem Wasser und an 3 %igem Alkohol (g/g) in Gramm pro Tier ermittelt wurde. Dargestellt sind die Mittelwerte für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$), der beide Substanzen appliziert wurden (L-5-Hydroxytryptophan 60 mg/kg plus Ro 4-4602/1 50 mg/kg i. p. an Tag 7 bis 16), während die zweite Gruppe ($n = 8$) ausschließlich mit Ro 4-4602/1 in gleicher Dosis behandelt wurde.



Abb. 18: Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan und von Ro 4-4602/1 auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (3 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 16.

Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von 5-HT und 5-HIAA nach Behandlung mit 5-HTP plus Benserazid-HCl und mit Benserazid-HCl allein sind in Tabelle III (in $\mu\text{g/g}$ Gehirn; $\bar{x} \pm s_x$) und in den Abbildungen 19 und 20 dargestellt. 5-HT und 5-HIAA sind nach Applikation der Wirkstoffkombination signifikant vermehrt (p für 5-HT $< 0,005$; p für 5-HIAA $< 0,001$), nämlich um das 3,6fache im Falle des Serotonins und um das 14,6fache bei der 5-Hydroxyindol-essigsäure. Um beurteilen zu können, ob Benserazid-HCl selbst die Konzentrationen von 5-HT und 5-HIAA im Gehirn der Ratte verändert, wurden in einem weiteren Experiment acht Ratten mit dem Pharmakon behandelt (50 mg/kg i.p.) und mit fünf Kontrolltieren verglichen, denen die gleiche Menge des Vehikels injiziert worden war. Der 5-HT-Spiegel der beiden Versuchstiergruppen war 150 min. nach einmaliger Injektion absolut identisch ($\bar{x} \pm s_x$: 0,44 $\pm$ 0,05 $\mu\text{g/g}$ Gehirn), während 5-HIAA bei den behandelten Tieren leicht erhöht war ($\bar{x} \pm s_x$: 0,32 $\pm$ 0,02 $\mu\text{g/g}$; 0,28 $\pm$ 0,04) bei den Kontrolltieren; der Unterschied ist aber nicht signifikant.

Tabelle III

	5-HT	5-HIAA
60 mg/kg 5-HTP 50 mg/kg Benserazid (n = 8)	1,57 $\pm$ 0,60 $\mu\text{g/g}$ ⁺⁺	4,67 $\pm$ 1,22 $\mu\text{g/g}$ ⁺⁺⁺
50 mg/kg Benserazid (n = 8)	0,44 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,02
Kontrollen (n = 5)	0,44 $\pm$ 0,05	0,28 $\pm$ 0,04
	⁺⁺ p < 0,005	⁺⁺⁺ p < 0,001

Diskussion

Experiment V hatte gezeigt, daß die Applikation von 5-HTP in einer Dosis von 60 mg/kg i.p. keinen Einfluß auf die Alkoholpräferenz

Abb. 19

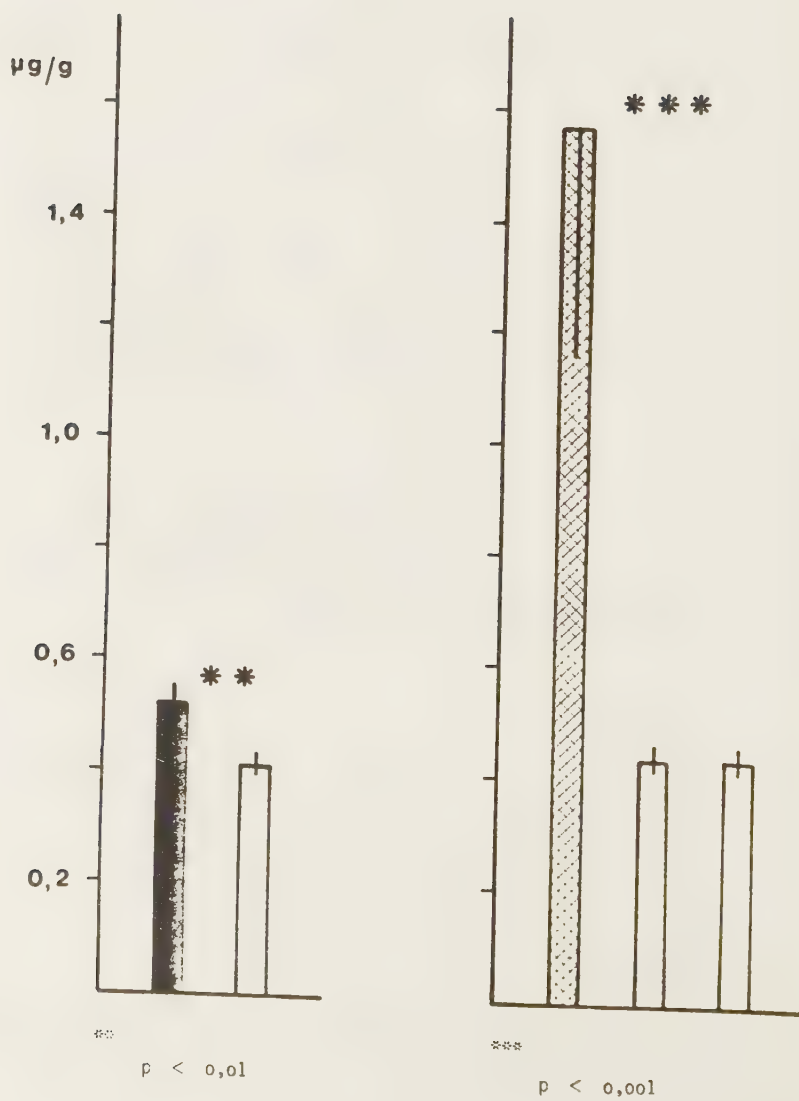


Abb. 20

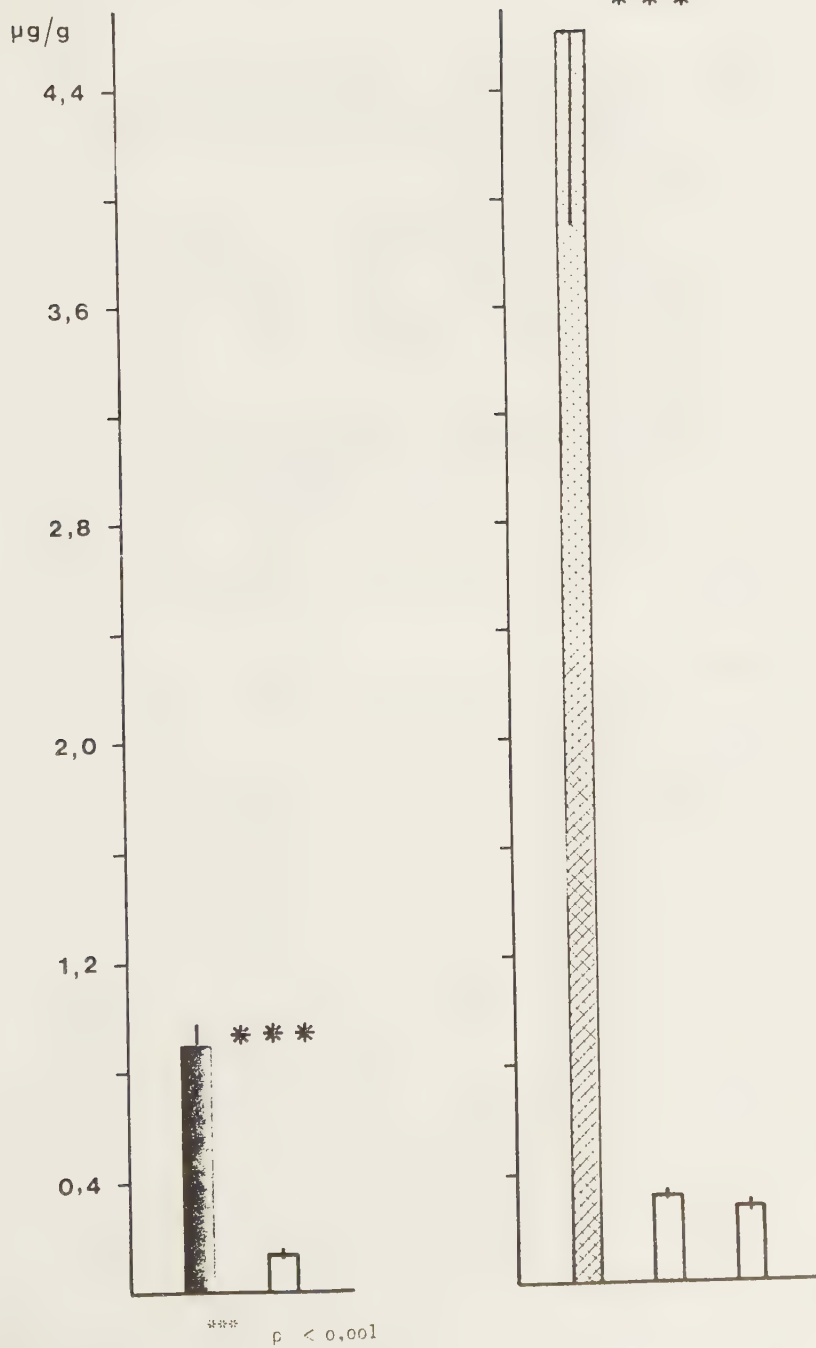


Abb. 19: Vergleichende Darstellung des 5-HT Gehaltes im Gehirn von Ratten nach Behandlung mit L-5-Hydroxytryptophan in Kombination mit Ro 4-4602/1 sowie Ro 4-4602/1 allein ($\mu\text{g/g}$ Frischgewicht).

links: Durchschnittlicher 5-HT Gehalt ($\bar{x} \pm s_x$) im Gehirn von weiblichen Ratten 3,5 Stunden nach i.p. Applikation von 60 mg/kg L-5-Hydroxytryptophan (linker Balken; $n = 8$), im Vergleich zu Kontrolltieren ($n = 8$), die mit gleichen Mengen des Vehikels behandelt wurden.

rechts: Durchschnittlicher 5-HT Gehalt ($\bar{x} \pm s_x$) im Gehirn von weiblichen Ratten 2,5 Stunden nach i.p. Applikation von L-5-Hydroxytryptophan (60 mg/kg i.p.) in Kombination mit Ro 4-4602/1 (50 mg/kg i.p.; linker Balken; $n = 8$), Ro 4-4602/1 allein (50 mg/kg i.p.; mittlerer Balken; $n = 8$) im Vergleich zu Kontrolltieren ($n = 5$), die mit gleichen Mengen des Vehikels behandelt wurden.

Abb. 20: Vergleichende Darstellung des 5-HIAA Gehaltes im Gehirn von Ratten nach Behandlung mit L-5-Hydroxytryptophan in Kombination mit Ro 4-4602/1 sowie Ro 4-4602/1 allein ($\mu\text{g/g}$ Frischgewicht).

links: Durchschnittlicher 5-HIAA Gehalt ($\bar{x} \pm s_x$) im Gehirn von weiblichen Ratten 3,5 Stunden nach i.p. Applikation von 60 mg/kg L-5-Hydroxytryptophan (linker Balken; $n = 8$), im Vergleich zu Kontrolltieren ($n = 8$), die mit gleichen Mengen des Vehikels behandelt wurden.

rechts: Durchschnittlicher 5-HIAA Gehalt ($\bar{x} \pm s_x$) im Gehirn von weiblichen Ratten 2,5 Stunden nach i.p. Applikation von L-5-Hydroxytryptophan (60 mg/kg i.p.) in Kombination mit Ro 4-4602/1 (50 mg/kg i.p.; linker Balken; $n = 8$), Ro 4-4602/1 allein (50 mg/kg i.p.; mittlerer Balken; $n = 8$) im Vergleich zu Kontrolltieren ($n = 5$), die mit gleichen Mengen des Vehikels behandelt wurden.

der Ratte hat, obwohl 5-HT und 5-HIAA im Gehirn signifikant vermehrt waren. Um zu erreichen, daß die systemisch verabreichte Dosis in höherer Konzentration am ZNS anflutet, wurde im vorliegenden Experiment zusätzlich zu 5-HTP der Decarboxylase-Hemmer Benserazid-HCl gegeben. Im Verlauf dieser Behandlung trat eine gestufte Abnahme des Alkoholanteils an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeit ein. Der absolute Alkoholverbrauch änderte sich dagegen nur unwesentlich. In diesem Punkt hatten sich die Versuchstiere im Experiment V nach Applikation von 5-HTP ohne Decarboxylase-Hemmer anders verhalten. Als Folge des gesteigerten Flüssigkeitsbedarfs - offenbar durch 5-HTP ausgelöst - hatten sie mehr Alkohol als zuvor getrunken, wobei aber der Anteil am Gesamtflüssigkeitsverbrauch unverändert geblieben war. Eine substanzspezifische Abnahme der Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser wurde erst durch eine Hemmung des peripheren 5-HTP Abbaus erreicht. Benserazid-HCl selbst führte nicht zu Veränderungen des freiwilligen Alkoholverbrauchs.

Durch den Zusatz eines Decarboxylase-Hemmers konnte der cerebrale 5-HT und 5-HIAA Gehalt nach Injektion von 5-HTP weiter gesteigert werden. Bartolini et al. (1967) fanden heraus, daß eine Dosis von 50 mg/kg die Aktivität der Decarboxylase im Gehirn nicht signifikant beeinflusst; die Wirkung bleibt auf extracerebrale Organe beschränkt, was zu einer Anreicherung von 5-HTP in der Peripherie führt. Folglich gelangt mehr 5-HTP durch die Blut-Hirn-Schranke in das ZNS als ohne Zusatz eines Decarboxylasehemmstoffs. Die Aktivität der cerebralen Decarboxylase ist jedoch nicht eingeschränkt, so daß es zur vermehrten Serotoninbiosynthese kommt, was die beobachtete Erhöhung um den Faktor 3 zu erklären vermag. Der vermehrten 5-HT Bildung folgt offensichtlich eine verstärkte Umwandlung zu 5-HIAA in dem Bestreben, möglichst rasch wieder physiologische Konzentrationen herzustellen. Die exzessiven 5-HIAA Werte deuten außerdem an, daß die Kapazität des 5-HIAA Transportmechanismus überlastet ist, was zu einem "Rückstau" im serotoninergen System geführt haben mag. Die günstige Beeinflussung der Alkoholpräferenz ist möglicherweise dadurch zustande gekommen, daß 5-HT die verantwortlichen Gewebsbezirke erreichte und Neurotransmitterfunktion erlangte. Aber auch die Dauer der Wirkung scheint das Ergebnis mitzubestimmen.

Auch Zabik et al. (1978) haben beobachtet, daß die Alkoholaufnahme nach Applikation von 5-HTP eingeschränkt ist. Den Versuchstieren wurde allerdings täglich nur eine Stunde zur Flüssigkeitsaufnahme eingeräumt. Als einzige Flüssigkeit stand Alkohol 12 %ig (V/V) zur Verfügung. Die Trinkmenge war vermindert, wenn 5-HTP eine halbe oder eine Stunde vor der "drinking session" appliziert wurde, nicht aber, wenn die Behandlung vier oder acht Stunden vorher erfolgt war, was als Indiz für die kurze Wirkungsdauer von 5-HTP anzusehen ist. Hingegen stellte Geller (1973) den Versuchstieren uneingeschränkt Wasser und alternativ Alkohol zur Verfügung. Dennoch nahm unter der 5-HTP Behandlung, die täglich nur einmal erfolgte, die Vorliebe für Alkohol ab. Eine Erklärung dieses Befundes fällt angesichts der kurzen Wirkungsdauer von 5-HTP außerordentlich schwer, zumal Myers et al. (1972) denselben Effekt offenbar erst dann erreichten, als sie eine wesentlich höhere Tagesdosis auf drei Applikationen verteilt zur Anwendung brachten. Der Einsatz eines peripher wirkenden Decarboxylase-Hemmers im vorliegenden Experiment zielte in dieselbe Richtung, wobei neben einer Konzentrationserhöhung im ZNS sehr wahrscheinlich auch eine Wirkungsverlängerung erreicht wurde.

Die Beobachtung, daß die Alkoholpräferenz bei der Ratte durch eine pharmakologisch herbeigeführte Vermehrung von 5-HT im ZNS unterdrückt werden kann, veranlaßte uns, andere chemische Verbindungen zu prüfen, die eine Affinität zu 5-HT Rezeptoren im ZNS besitzen sollen. Die Eigenschaften eines 5-HT Agonisten werden z. B. der Substanz Quipazin nachgesagt, weil die "serotoninartigen Wirkungen" dieser Substanz durch Antagonisten wie Cyproheptadin oder Cinanserin aufgehoben werden können (Hong et al., 1969; Rodriguez et al. 1973). Rodriguez u. Pardo (1971) schreiben diesem Pharmakon antidepressive Wirksamkeit zu. Außerdem soll Quipazin eine anorexigene Wirkungskomponente besitzen (Samanin et al., 1977 a und b).

6.6 Experiment VII

Methode

Bei 20 weiblichen Wistar-Ratten (SPF) mit einem mittleren Körpergewicht von 197 g zu Versuchsbeginn wurde nach Methode II b Vorliebe für 3 %igen Äthylalkohol (g/g) induziert. Das Präferenzver-

halten wurde 8 Tage lang geprüft. Die 16 alkoholpräferentesten Individuen wurden in zwei Gruppen zu je 8 Tieren aufgeteilt. Während der achttägigen Applikationsperiode erhielten die Ratten der Behandlungsgruppe zweimal täglich Quipazin [2-(1-Piperazinyl)-chinolinmaleat, Miles Laboratories] in einer Tagesdosis von 20 mg pro kg Körpergewicht. Die Substanz wurde unmittelbar vor der Verabreichung (7 Uhr/19 Uhr) in bidestilliertem Wasser aufgelöst und per Schlundsonde oral zugeführt. Die Kontrolltiere erhielten gleiche Mengen bidestilliertes Wasser ebenfalls per os. Nach dem Behandlungsabbruch wurde das Präferenzverhalten weitere acht Tage beobachtet. Am letzten Versuchstag wurde den Versuchstieren 10 mg/kg Quipazin verabreicht. Den Kontrolltieren wurde die gleiche Menge bidestilliertes Wasser (4 ml/kg) p. o. appliziert. Zwei Stunden später wurden die Ratten zwecks Quantifizierung von 5-HT und 5-HIAA dekapitiert.

Die übrigen experimentellen Bedingungen wurden unverändert beibehalten.

Ergebnisse

Während der Vorperiode tranken die Ratten der Behandlungsgruppe durchschnittlich 18,2 g und die Kontrolltiere 23,6 g 3 %igen Alkohol (g/g) pro Tag. Auf 1 kg Körpergewicht bezogen errechnet sich ein mittlerer Verbrauch von 2,8 g bzw. 3,6 g reinem Alkohol pro Tag. Die Unterschiede im Alkoholverbrauch der beiden Gruppen vor Behandlungsbeginn sind signifikant (Mann Whitney Test; $p < 0,005$). Während der Behandlung mit Quipazin fiel der Alkoholkonsum auf 13,3 g pro Tag ab, entsprechend 2,0 g/kg reinem Alkohol. Diese Veränderung klassifiziert der gepaarte t-Test als statistisch signifikant ($p < 0,001$). In der Nachperiode, als die Behandlung ausgesetzt wurde, nahmen die Versuchstiere wieder 2,7 g reinen Alkohol pro kg Körpergewicht auf, was einem täglichen Verbrauch von 18 g 3 %igem Alkohol entspricht.

Der prozentuale Anteil des verdünnten Alkohols am Gesamtflüssigkeitsverbrauch ging unter der Behandlung mit Quipazin von 80 % (Vorperiode) auf 62 % zurück ($p < 0,005$) und stieg in der Nachperiode wieder auf 79 % an. Der Gesamtflüssigkeitsverbrauch blieb

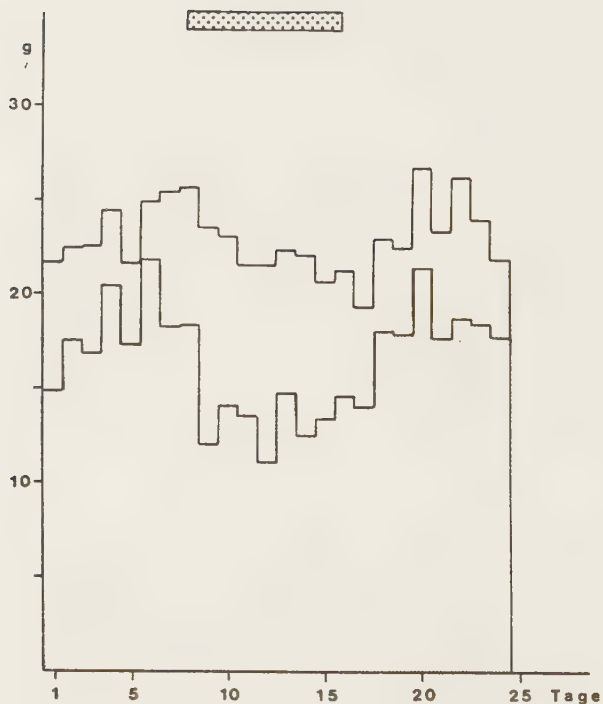


Abb. 21: Einfluß von Quipazin auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte der täglich aufgenommenen Alkohollösung (3 %ig; g/g) in Gramm. Den Versuchstieren (gestreiftes Feld; $n = 8$) wurde Quipazin vom 8. bis zum 16. Versuchstag zweimal täglich oral zugeführt (Tagesdosis: 20 mg/kg aufgelöst in 2 ml Aqua bidest.). Die Tiere der Kontrollgruppe ($n = 8$) erhielten die gleiche Menge Aqua bidest.

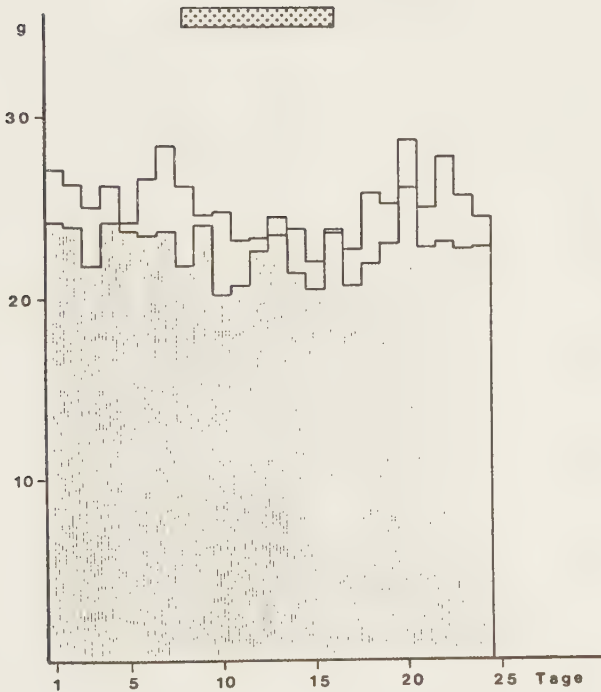


Abb. 22: Einfluß von Quipazin auf die tägliche Gesamtflüssigkeitsaufnahme, die aus der Summe des Verbrauchs an reinem Wasser und an 3 %igem Alkohol (g/g) in Gramm ermittelt wurde. Dargestellt sind die Mittelwerte für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 21.

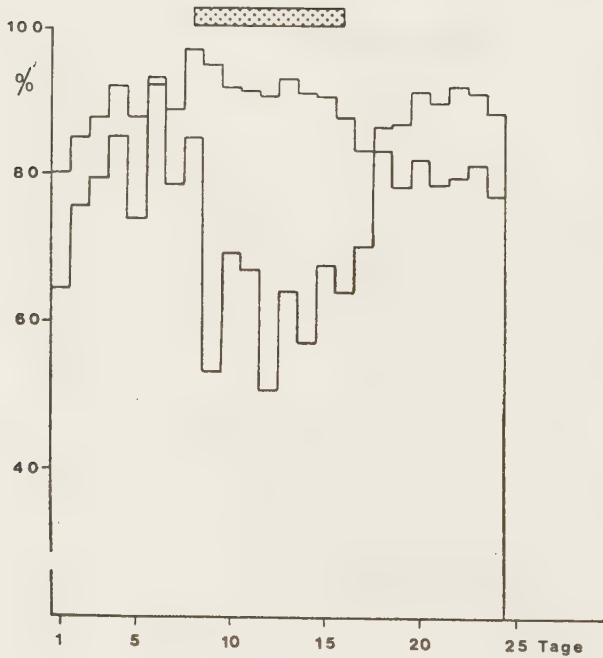


Abb. 23: Einfluß von Quipazin auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (3 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch) für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 21.

während der gesamten Versuchsdauer nahezu konstant, was auch auf das Körpergewicht zutrifft: Während der Vorperiode wogen die Tiere durchschnittlich 200 g, während der Behandlung 199 g und in der Nachperiode 202 g.

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. IV und in den Abbildungen 21 bis 23 dargestellt.

Die quantitative Bestimmung von 5-HT und 5-HIAA ergab folgende Mittelwerte ($\mu\text{g/g}$ Gehirn, Frischgewicht; $\bar{x} \pm s_x$):

Tabelle IV

	5-HT	5-HIAA
Quipazin 10 mg/kg n = 8	$0,34 \pm 0,04^+$	$0,15 \pm 0,02^+$
Kontrollen n = 8	$0,30 \pm 0,04$	$0,17 \pm 0,02$
		$^+ p < 0,05$

Zwei Stunden nach Applikation von 10 mg/kg i. p. Quipazin war der cerebrale Serotoningehalt signifikant vermehrt ($p < 0,05$), der 5-HIAA Gehalt hingegen signifikant vermindert ($p < 0,05$).

Diskussion

Quipazin erwies sich in diesem Experiment als eine Substanz, die bei einer Dosierung von täglich 2×10 mg/kg den freiwilligen Alkoholkonsum der Ratte vermindert. Der Effekt kommt nicht auf Kosten eines eingeschränkten Flüssigkeitskonsums, sondern durch eine Umstellung des Präferenzmusters zustande. Mit der verminderten Selektion von alkoholhaltigem Trinkwasser ist eine Zunahme

des Verbrauchs von reinem Trinkwasser verknüpft. Der prozentuale Anteil des verdünnten Alkohols am täglichen Flüssigkeitskonsum ging unter der Quipazin-Behandlung um durchschnittlich 18 % zurück. Es ist bemerkenswert, daß im Anschluß an die Behandlungsperiode das ursprüngliche Präferenzverhalten wiederkehrt. Opitz (1977) untersuchte den Einfluß von Quipazin (20 mg/kg p.o.) auf den freiwilligen Alkoholverbrauch (5 %ig; g/g) des Syrischen Hamsters. In der Behandlungsperiode war die Alkoholaufnahme zwar vermindert, da die Tiere aber auch weniger Wasser zu sich nahmen, ging der prozentuale Anteil des Alkohols am Gesamtflüssigkeitsverbrauch nicht signifikant zurück.

Die für 5-HT und 5-HIAA ermittelten Werte befinden sich prinzipiell in Übereinstimmung mit dem Untersuchungsergebnis von Fuller et al. (1976). Zwei Stunden nach i.p. Injektion einer Dosis von 10 mg/kg ist der Serotoningehalt des Gehirns signifikant erhöht, der 5-HIAA Gehalt dagegen signifikant vermindert. Dieser Effekt ist nach Fuller et al. (1976) abhängig von der applizierten Dosis. Die Autoren fanden außerdem heraus, daß acht Stunden nach Injektion von 32 mg/kg Quipazin die 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen wieder den Normalwerten entsprechen und im übrigen mit der Präsenz von Quipazin im ZNS korrelieren. Signifikante Unterschiede wurden lediglich zwei und vier Stunden nach der Applikation konstatiert, was eine verhältnismäßig kurze Wirkungsdauer der Substanz andeutet. Dem entspricht auch der unauffällige Verlauf der Körpergewichte in diesem Experiment. Obwohl die Substanz nach Samanin (1977 a und b) anorexigene Eigenschaften besitzen soll, wurde unter den herrschenden experimentellen Bedingungen kein Gewichtsverlust bei den Tieren registriert. Es ist möglich, daß die Futteraufnahme zu einer Zeit stattfand, als die Substanz nicht mehr wirksam war. Dies mag auch erklären, weshalb der Alkoholkonsum nicht markanter zurückging.

Neben dem erneuten Hinweis darauf, daß offenbar eine Verbindung zwischen dem cerebralen 5-HT Stoffwechsel und der Präferenz für Alkohol besteht, wird durch dieses Experiment angedeutet, durch welchen pharmakodynamischen Effekt das Präferenzverhalten günstig beeinflußt werden kann. Quipazin soll nämlich die Serotonin-Rezeptoren im ZNS stimulieren können (Hong et al., 1969; Rodriguez et

al. 1973), also stellvertretend für den Neurotransmitter 5-HT wirksam sein. Dies würde auch die beobachtete 5-HT Vermehrung und die 5-HIAA Verminderung erklären. Da die Funktion von 5-HT teilweise durch Quipazin übernommen und verstärkt wird, kommt es kompensatorisch zu einer verminderten 5-HT Freisetzung aus den vesikulären Speicherorganellen. Folglich befindet sich - durch Quipazin verdrängt - weniger 5-HT im Axoplasma der Nervenzelle und im synaptischen Spalt.

Da das Enzym MAO vorwiegend intraneuronal vorkommt, resultiert daraus ein verminderter Umsatz von 5-HT zu 5-HIAA. Darüber hinaus scheint Quipazin keine dauerhaften Funktionsänderungen des 5-HT Stoffwechsels zu verursachen, wie sie etwa von Fenfluramin oder pCPA bekannt sind. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Ratten unmittelbar nach der Behandlungsperiode exakt dasselbe Präferenzverhalten demonstrierten wie vorher.

Während Quipazin offenbar direkt auf 5-HT Rezeptoren einwirkt, kommt die Wirkung anderer Pharmaka auf indirektem Weg zustande. Eine Möglichkeit, 5-HT Rezeptoren in vermehrtem Umfang zu stimulieren, besteht in der Hemmung der Wiederaufnahme des Neurotransmitters aus dem synaptischen Spalt in das präganglionäre Neuron. Eine neue Substanz, die als "uptake inhibitor" mit hoher Wirkungsspezifität auf serotoninerge Neurone im ZNS diskutiert wird, ist Organon 6582 (Org 6582).

6.7 Experiment VIII

Methode

Bei 20 weiblichen Wistar-Ratten (SPF) mit einem mittleren Körpergewicht von 183 g zu Versuchsbeginn wurde nach Experiment II b Alkoholpräferenz induziert. Dann wurde das Präferenzverhalten fünf Tage lang bei gleichzeitigem Angebot von Leitungswasser und 3 %igem Äthylalkohol (g/g) beobachtet. Die Trinkmengen wurden täglich ermittelt. Aus dem Kollektiv wurde eine Behandlungsgruppe mit 7 Ratten und eine Kontrollgruppe mit 8 Ratten gebildet. Vom fünften Tag an wurde Org 6582 zweimal täglich im 12-Stunden-Turnus (7.00 Uhr/19.00 Uhr) in einer Tagesdosis von 30 mg/kg appliziert. Die Substanz wurde in 1 %iger Tylose^R suspendiert und per os ver-

abreicht (Schlundsonde). Die Kontrollen erhielten gleiche Mengen des Vehikels (2 ml/kg). Am zehnten Versuchstag wurden die Tiere 90 Minuten nach der letzten Applikation zwecks Quantifizierung von 5-HT und 5-HIAA dekapiert.

Ergebnisse

Während der Vorperiode tranken die Ratten der Behandlungsgruppe täglich im Durchschnitt 30,4 g 3 %igen Alkohol, entsprechend 4,5 g absolutem Alkohol/kg. Die Verbrauchswerte der Kontrolltiere lagen bei 29,1 g bzw. 4,3 g/kg. Während der Applikationsperiode ging der Alkoholkonsum auf 7,2 g zurück, entsprechend 1,1 g/kg. Im gepaarten t-Test wurde dieser Unterschied als hochsignifikant ermittelt ($p < 0,001$). Das Trinkverhalten der Kontrolltiere variierte ebenfalls, wobei die freiwillige Alkoholaufnahme von 4,3 g pro kg und Tag auf 3,7 g pro kg und Tag zurückging ($p < 0,05$). Auch der Gesamtflüssigkeitsverbrauch verminderte sich signifikant ($p < 0,02$), so daß der prozentuale Anteil des verdünnten Äthanol's beinahe unverändert blieb. Die mittleren Körpergewichte der behandelten Tiere betrugen in der Vorperiode 205 und in der Behandlungsperiode 198 g; der Gewichtsverlust ist bei Anwendung des gepaarten t-Tests signifikant ($p < 0,001$). Die Körpergewichte der Kontrolltiere zeigten keine nennenswerten Veränderungen.

Die quantitative Bestimmung von 5-HT und 5-HIAA ergab folgende Werte ($\mu\text{g/g}$ Gehirn, Frischgewicht; $\bar{x} \pm s_x$):

Tabelle V

	5-HT	5-HIAA
Org 6582 (n = 7) 15 mg/kg p.o.	$0,28 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,01$ ⁺⁺⁺
Kontrollen (n = 8)	$0,28 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,02$
		⁺⁺⁺ $p < 0,001$

Der Serotoningehalt war somit 90 Minuten nach der letzten Applikation unverändert, die 5-HIAA Konzentrationen hingegen signifikant vermindert ($p < 0,001$). Die Versuchsergebnisse sind in den Abbildungen 24 bis 26 dargestellt.

Diskussion

Die Applikation von Org 6582 wirkte sich bei den Versuchstieren nachhaltig auf die Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser aus. Neben dem täglichen Verbrauch an verdünntem Alkohol und an absolutem Alkohol (bezogen auf das Körpergewicht) war auch das prozentuale Verhältnis zum Gesamtflüssigkeitsverbrauch stark rückläufig. Dieser Effekt tritt nach Opitz (1977) auch beim alkoholpräferenten Hamster auf, wobei ergänzend anzumerken ist, daß die Alkoholaufnahme dieser Spezies erfahrungsgemäß weitaus schwieriger zu beeinflussen ist. Die Wirkung von Org 6582 scheint nicht über eine "conditioned taste aversion" zustande zu kommen, die sich dadurch entwickeln könnte, daß das Pharmakon mit dem Xthanolabbau interferiert, so daß die weitere Aufnahme von verdünntem Alkohol zu subjektiv unangenehmen Empfindungen führt (Antabus-Effekt). Eine solchermaßen entstandene Aversion überdauert i. a. die Substanzzufuhr um 10 bis 14 Tage. Opitz (1977) zeigte aber, daß die Versuchstiere sofort zu ihren ursprünglichen Trinkgewohnheiten zurückfinden, wenn die Behandlung mit Org 6582 beendet wird. Der Gewichtsverlust, der im Verlauf der Applikation im vorliegenden Experiment eintrat, ist möglicherweise auf einen anorexigenen Effekt zurückzuführen. Für diese Annahme sprechen die signifikant verminderten Trinkmengen. Ob die Substanz tatsächlich anorexigene Eigenschaften besitzt, kann allerdings nur bei Kontrolle der Nahrungsaufnahme beurteilt werden; die alleinige Registrierung des Körpergewichtes und der Trinkmengen reicht für eine sichere Aussage nicht aus.

Nach Mireylees et al. (1978) zeigt Org 6582 in vitro Eigenschaften eines selektiven Hemmstoffes der Wiederaufnahme von (mit Tritium markiertem) Serotonin in Synaptosomen. Untersuchungen dieser Art werden durchgeführt, um physiologische Mechanismen zu erforschen, die sich einer direkten Beobachtung entziehen. Im vorliegenden Fall stellen sie ein Hilfsmittel dar für die Beurteilung, ob der Haupt-



Abb. 24: Einfluß von Org 6582 auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte der täglich aufgenommenen Alkohollösung (3 %ig; g/g) in Gramm. Den Versuchstieren (gestreiftes Feld; $n = 8$) wurde die Substanz vom 5. bis zum 10. Versuchstag zweimal täglich p.o. appliziert (Tagesdosis: 30 mg/kg suspendiert in 2 ml 1 %iger Tyloselösung). Die Tiere der Kontrollgruppe ($n = 8$) erhielten im gleichen Zeitraum gleiche Mengen des Vehikels. Die Ratten wurden 90 min. nach der letzten Applikation getötet.

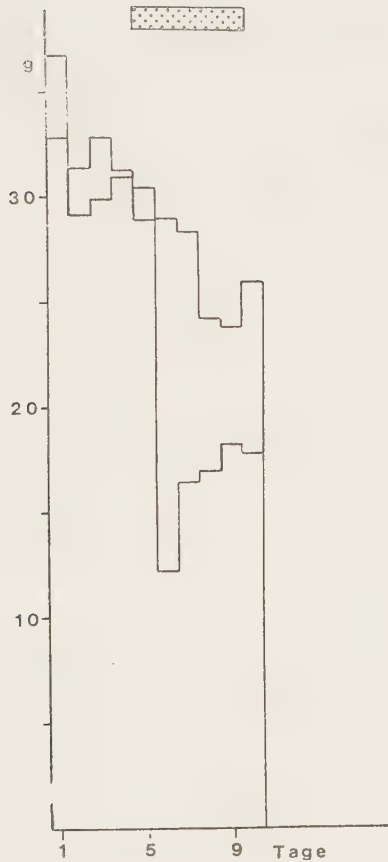


Abb. 25: Einfluß von Org 6582 auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (3 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch) für die Versuchsgruppe (gestricheltes Feld; $n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 24.



Abb. 26: Einfluß von Org 6582 auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (3 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Flüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch) für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 24.

weg der Inaktivierung von 5-HT - nämlich die Wiederaufnahme in das präganglionäre Neuron über die sogenannte Amin-Pumpe - durch ein Pharmakon behindert wird. Org 6582 zeigte als "uptake inhibitor" für Noradrenalin und Dopamin eine weitaus geringere Wirksamkeit.

In vivo Experimente ergaben ebenfalls Hinweise auf eine Hemmung der Wiederaufnahme von 5-HT, nicht aber von Noradrenalin und Dopamin (Goodlet et al., 1976; Sugrue et al., 1976). Durch Applikation von Org 6582 konnte die durch pCA induzierte Serotoninverminderung im Gehirn der Ratte partiell blockiert werden. Dies wird verständlich, wenn man bedenkt, daß 5-HIAA als Endprodukt des Serotoninstoffwechsels erst nach Wiederaufnahme in das präganglionäre Neuron in größeren Mengen entstehen kann, da das verantwortliche Enzym MAO bevorzugt intraneuronal lokalisiert ist. Durch eine Blockade des Abbauweges wird folglich auch eine durch pCA induzierte Depletion erschwert. Außerdem ist ein verminderter Umsatz von 5-HT zu erwarten, was durch die Untersuchungen von Goodlet et al. bestätigt wird.

Die gefundenen cerebralen 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen stimmen grundsätzlich mit den Ergebnissen von Sugrue et al. (1976) überein. Während der 5-HT level unverändert blieb, war 5-HIAA nach der Applikation signifikant herabgesetzt. Die aktuellen Konzentrationen lassen sich durch den Wirkungsmechanismus von Org 6582 erklären, der wahrscheinlich zu einer Vermehrung von 5-HT im synaptischen Spalt und folglich zu einem gesteigerten 5-HT Angebot am Rezeptor führt. Daß dem Enzym MAO das Substrat gewissermaßen vorenthalten wird, schlägt sich in entsprechend niedrigen 5-HIAA Konzentrationen nieder. Bezogen auf die Alkoholpräferenz der Ratte wird erneut deutlich, daß eine gesteigerte Aktivität des serotoninergen Systems im ZNS die Vorliebe für Alkohol offenbar abnehmen läßt.

Das Endprodukt des Serotoninstoffwechsels, die 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) wird aus dem Gehirn über verschiedene Transportmechanismen eliminiert, wozu die einfache Diffusion und ein aktiver Transport aus dem Liquor cerebrospinalis in das Blut gehören. Der Transport von organischen Säuren aus dem Gehirn in das Blut kann durch Probenecid gehemmt werden. Das gilt nach Wahlström (1978)

für körperfremde wie für körpereigene anionische Substanzen, z. B. die Metabolite 5-Hydroxyindolessigsäure = 5-HIAA und Homovanillin-säure = HVA (Neff et al. 1964, 1967; Werdinius 1966).

Bekannter als die inhibitorische Wirkung auf den Säuretransport durch die Blut-Hirn-Schranke ist die Hemmwirkung des Benzoessäurederivates Probenecid auf den renal-tubulären Transport von organischen Säuren (Penicilline, Cephalosporine, p-Aminosalicylsäure, Perabrodil^R, p-Aminohippursäure). Die Hemmung der renalen Ausscheidung von Penicillinen durch tubulären Transport und die Hemmung der aktiven Rückresorption von Harnsäure aus dem Tubuluslumen in das peritubuläre Blut bilden die Grundlage für die arzneiliche bzw. therapeutische Anwendung von Probenecid als ein Mittel zur Verlängerung der Penicillinwirkung bzw. als sog. Uricosuricum bei der Gicht.

Die Überlegung, daß Probenecid durch Hemmung des Austritts von 5-HIAA aus dem Gehirn die 5-HT Konzentration über einen Rückstau-mechanismus indirekt beeinflussen, nämlich ansteigen lassen könnte gab Anlaß, den Einfluß dieser Substanz auf den freiwilligen Alkoholkonsum von präferenten Ratten zu untersuchen.

6.8 Experiment IX a

Methode

20 weibliche Wistar-Ratten (SPF) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 205 g bei Versuchsbeginn wurden zunächst den experimentellen Bedingungen zur Induktion einer Vorliebe für Alkohol 3 %ig (g/g) ausgesetzt. Aus dem Kollektiv wurden 16 Tiere nach ihrem Präferenzgrad ausgewählt und in zwei Gruppen aufgeteilt. Nach einer sechstägigen Vorperiode zur Beobachtung des Trinkverhaltens wurde den Ratten der Behandlungsgruppe 5 Tage lang Probenecid per os appliziert. Die Substanz wurde in Tylose^R 1 %ig suspendiert und in einer Dosis von 400 mg/kg verabreicht (3 ml/kg). Die Kontrollgruppe erhielt gleiche Mengen des Vehikels. Während des Versuchs wurden die Trinkmengen und die Körpergewichte täglich registriert. Am Ende des Versuches wurden die Tiere 2,5 Stunden nach der letzten Applikation dekapitiert. Die Gehirne wurden rasch entnommen und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur Quantifizierung von 5-HT und 5-HIAA wurden die Organe bei - 20⁰ C aufbewahrt.

Experiment IX b

Methode

Ein weiteres Experiment wurde mit 5 Ratten durchgeführt, die a priori Vorliebe für 5 %igen Alkohol (g/g) zeigten, also niemals zur Alkoholaufnahme gezwungen worden waren. In diesem Versuch wurde das Trinkverhalten auch nach Beendigung der Behandlung mit Probenecid beobachtet; die übrigen Versuchsparameter wurden in Anlehnung an Experiment IX a beibehalten.

Ergebnisse Experiment IX a

Im Verlauf der Probenecidbehandlung war die Alkoholaufnahme der behandelten Tiere rückläufig. Während die Tiere in der Vorperiode durchschnittlich 22,5 g 3 %igen Alkohol (g/g) pro Tag tranken, wurde für die Behandlungsperiode ein Wert von 15,1 g ermittelt ($p < 0,02$). Berechnet auf absoluten Alkohol in g pro kg Körpergewicht und Tag ergibt sich ein Verbrauch von 3,2 g bzw. 2,2 g ($p < 0,02$). Die Gesamttrinkmengen blieben während des gesamten Versuches praktisch unverändert (Vorperiode: 27,6 g; Behandlungsperiode: 26,8 g), was auch auf das durchschnittliche Körpergewicht zutrifft (Vorperiode: 209 g; Behandlungsperiode: 210 g). Der prozentuale Anteil des Alkohols an der täglichen Gesamtflüssigkeitsaufnahme ging bei den behandelten Tieren von 82,5 % auf 51,1 % zurück ($p < 0,05$). Mit Ausnahme des Gesamtflüssigkeitsverbrauches waren die entsprechenden Werte der Kontrollen nicht signifikant verändert, so daß der Applikationsvorgang selbst offenbar ohne Einfluß blieb. Im Verlauf der Behandlung mit 1 %iger Tylose^R ging die Gesamttrinkmenge der Kontrolltiere von 29,4 g auf 26,7 g zurück ($p < 0,01$). Die Ergebnisse dieses Experimentes sind auch aus den Abbildungen 27 bis 29 ersichtlich.

Die quantitative Bestimmung von 5-HT und 5-HIAA im Ganzhirn der behandelten Tiere und der Kontrollen ergab folgende Konzentrationen in $\mu\text{g/g}$ Frischgewicht ($\bar{x} \pm s_x$):



Abb. 27: Probenecid-Versuch IX a: Einfluß von Probenecid auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte der täglich aufgenommenen Alkohollösung (3 %ig; g/g) in Gramm. Den Versuchstieren (gestreiftes Feld; $n = 8$) wurde Probenecid von 5. bis zum 10. Tag p.o. appliziert (Dosis: 400 mg/kg suspendiert in 3 ml 1 %iger Tyloselösung). Die Tiere der Kontrollgruppe ($n = 8$) erhielten gleiche Mengen des Vehikels. Die Ratten wurden 2,5 Stunden nach der letzten Applikation getötet.

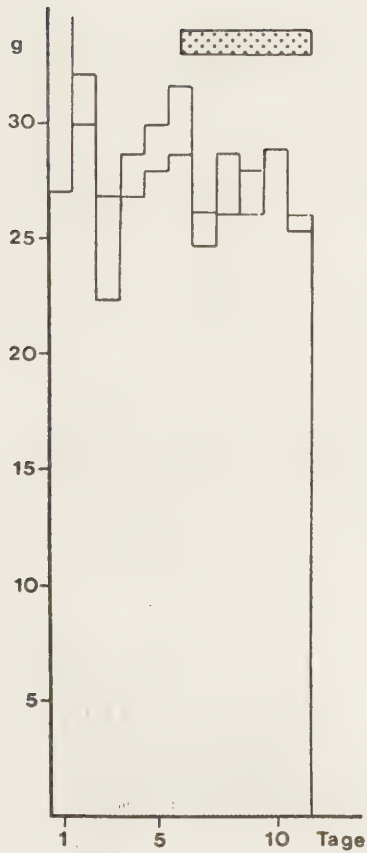


Abb. 28: Probenecid-Versuch IX a: Einfluß von Probenecid auf die tägliche Gesamtflüssigkeitsaufnahme, die aus der Summe des Verbrauchs an reinem Wasser und an 3 %igem Alkohol (g/g) ermittelt wurde. Dargestellt sind die Mittelwerte der Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 27.

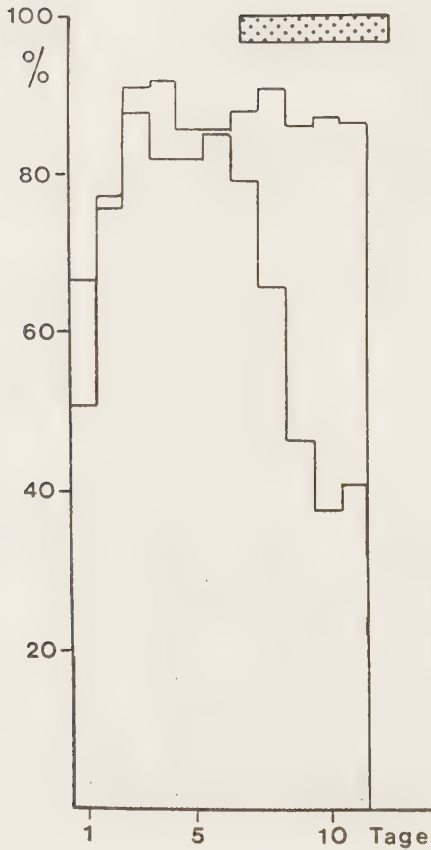


Abb. 29: Probenecid-Versuch IX a: Einfluß von Probenecid auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten. Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (3 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch) für die Versuchsgruppe (gestreiftes Feld; $n = 8$) und die Gruppe der Kontrolltiere ($n = 8$). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 27.

Tabelle VI

	5-HT	5-HIAA
Probenecid 400 mg/kg (n = 8)	0,68 $\pm$ 0,10 ⁺⁺	0,40 $\pm$ 0,10 ⁺⁺
Kontrollen (n = 8)	0,51 $\pm$ 0,10	0,27 $\pm$ 0,05
	⁺⁺ p < 0,005	

Die Tiere, denen Probenecid verabreicht worden war, wiesen signifikant erhöhte 5-HT und 5-HIAA Konzentrationen auf ($p < 0,005$). Für diese beiden Substanzen ergibt sich ein Konzentrationszuwachs um 33,3 bzw. 48,1 %. Die Substanz Probenecid wurde trotz der großen Dosis gut vertragen. Die Tiere verhielten sich nach der Applikation unauffällig.

Ergebnisse Experiment IX b

Für diesen Versuch wurden die Ratten anhand ihrer Vorliebe für 5 %igen Alkohol (g/g) selektiert. Vor der Behandlungsperiode tranken sie täglich 15,2 g verdünnten Alkohol (3,7 g/kg absoluter Alkohol) und nahmen pro Tag 24,9 g Flüssigkeit zu sich, woraus sich ein durchschnittlicher Alkoholanteil von 61 % errechnet. Während der Behandlungsperiode betrug der Alkoholkonsum im Durchschnitt 3,8 g pro Tag ($p < 0,001$), was einem prozentualen Anteil von 13 % ($p < 0,001$) und einem täglichen Verbrauch von 1,0 g absolutem Alkohol/kg entspricht. Die Gesamttrinkmenge stieg auf durchschnittlich 30,2 g an ($p < 0,01$). In der Nachperiode tranken die Ratten weiterhin weniger verdünnten Alkohol als vor der Probenecid-Behandlung, aber geringfügig mehr, als in der Behandlungsperiode, wobei sich ein Mittelwert von 4,8 g ergab. Der Gesamtflüssigkeitsverbrauch ging in der Nachperiode auf 28 g zurück ($p < 0,05$). So erklärt es sich, daß der prozentuale Anteil des Alkohols auf 17,5 % anstieg, was jedoch nicht signifikant ist. Die Körpergewichte waren während der Behandlung leicht

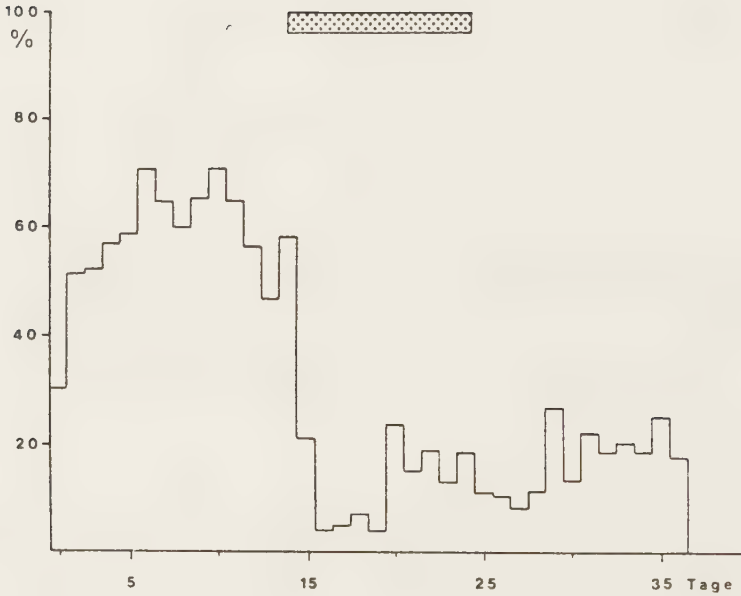


Abb. 30: Probenecid-Versuch IX b: Einfluß von Probenecid auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten ($n = 5$). Dargestellt sind die Mittelwerte des prozentualen Anteils der Alkohollösung (5 %ig; g/g) an der täglich aufgenommenen Gesamtflüssigkeitsmenge (Summe aus Alkohol- und Wasserverbrauch). Näheres zu den Versuchsbedingungen s. Abb. 31.

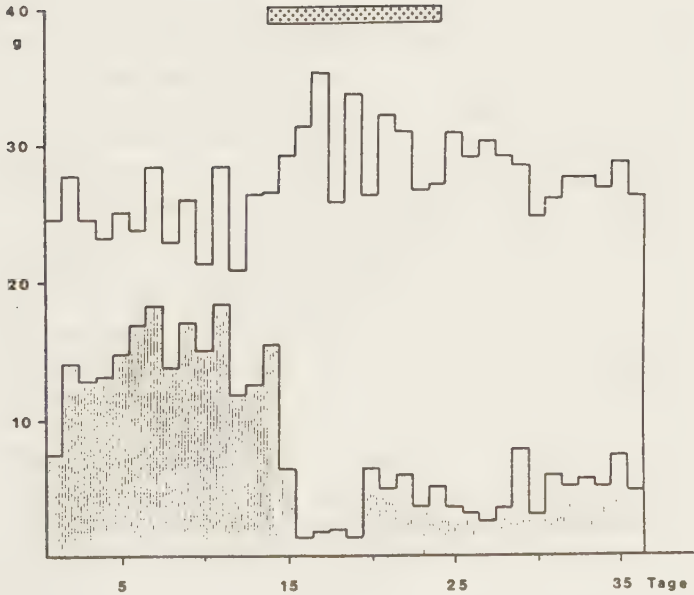


Abb. 31: Probenecid-Versuch IX b: Einfluß von Probenecid auf die freiwillige Alkoholaufnahme bei weiblichen Ratten ($n = 5$). Dargestellt sind die Mittelwerte der täglich aufgenommenen Alkohollösung (5 %ig; g/g) in Gramm (gestreiftes Feld) und die Mittelwerte der insgesamt aufgenommenen Flüssigkeitsmengen (Summe aus Alkohol- und Wasserbrauch) in Gramm. Den Versuchstieren wurde die Substanz vom 14. bis zum 24. Versuchstag p.o. appliziert (Dosis: 400 mg/kg suspendiert in 3 ml 1 %iger Tyloselösung).

rückläufig, aber nicht signifikant vermindert. Auch in diesem Experiment erwies sich Probenecid als gut verträglich. Die wichtigsten Resultate sind in den Abbildungen 30 und 31 zusammengefaßt.

Diskussion

Bei zwei Experimenten, die unabhängig voneinander durchgeführt wurden, nahm die freiwillige Alkoholaufnahme unter dem Einfluß von Probenecid deutlich ab. Bei Experiment IX a blieb die Gesamttrinkmenge konstant; es handelt sich hier also um eine echte Umstellung des Präferenzverhaltens, denn die Versuchstiere ersetzten das täglich konsumierte Alkoholquantum durch reines Wasser. Bei Experiment IX b waren die Gesamttrinkmengen während und nach der Behandlungsperiode dagegen signifikant erhöht. Trotzdem bewirkte Probenecid auch in diesem Versuch eine signifikante Verminderung des absoluten Alkoholverbrauchs in g pro kg Körpergewicht und Tag. Die Ergebnisse der beiden Versuche sind aber nur bedingt vergleichbar, da die Tiere vor Versuchsbeginn unterschiedlichen Bedingungen ausgesetzt waren. Im ersten Versuch wurde die Vorliebe für alkoholhaltiges Trinkwasser durch erzwungene Alkoholaufnahme induziert, was zu einer vermehrten Flüssigkeitsaufnahme führt (s. Teil I). Im zweiten Fall wurden die Tiere aufgrund ihrer spontanen Präferenz für 5 %igen Alkohol selektiert. Experiment IX b wurde demnach von Tieren bestritten, die ihren Elektrolythaushalt regulieren konnten, da stets reines Wasser zur Verfügung stand.

Der Alkoholkonsum nahm bereits nach der ersten Applikation deutlich ab und erreichte in Experiment IX a nach der vierten Behandlung ein Minimum. Der sukzessive Rückgang der täglichen Alkoholaufnahme zeigt, daß der Effekt offenbar nicht über eine substanzbedingte "taste aversion" zustande kommt. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Tiere während der Applikation noch immer zur Hälfte Alkohol tranken.

Experiment IX b gibt weitere Aufschlüsse über das Präferenzverhalten während der Behandlung mit Probenecid und in der Zeit danach (Nachperiode). Da der Alkoholkonsum bereits nach der zweiten Applikation ein Minimum erreichte, ist anzunehmen, daß die Tiere dieses Experi-

menten empfindlicher auf dieselbe Dosis reagierten. Außerdem ging der prozentuale Alkoholanteil an der Gesamttrinkmenge noch deutlicher zurück. Vom siebten Behandlungstag an tranken die Ratten geringfügig mehr Alkohol, was möglicherweise auf eine nachlassende Wirkungsintensität zurückzuführen ist. Dagegen spricht allerdings die Beobachtung, daß sich das Präferenzverhalten nicht wesentlich änderte, als die Substanz abgesetzt wurde. Ferner ist an den 12 Tagen der Nachperiode eine ansteigende Tendenz nicht erkennbar, obwohl angenommen werden darf, daß das Pharmakon nach diesem Zeitraum aus dem Organismus eliminiert war. Zur Klärung dieses Phänomens sind weitere experimentelle Untersuchungen nötig.

Es wurde eingangs erwähnt, daß an den beiden Experimenten Ratten beteiligt waren, deren Alkoholpräferenz unterschiedlicher Herkunft ist. Die Probenecidwirkung wurde zum einen an Tieren untersucht, deren Präferenzverhalten induziert war. Zum anderen kam die Substanz bei Ratten zur Anwendung, die dem Alkohol spontan den Vorzug gaben. Es ist nachgewiesen worden, daß sich die cerebrale Serotoninkonzentration dieser Ratten von der nichtpräferenter Individuen unterscheidet, was wahrscheinlich genetisch bedingt ist. In beiden Fällen bewirkte Probenecid einen Rückgang der freiwilligen Alkoholaufnahme, wobei der Effekt beim zweiten Versuch markanter in Erscheinung trat. Es ist denkbar, daß die vorgegebene Situation des 5-HT Stoffwechsels für die Intensität der Wirkung mitentscheidend ist. Daraus ergibt sich die Anregung, auch andere Pharmaka bei genetisch differenten Ratten zu erproben.

Die fluoreszenzphotometrische Bestimmung bestätigt die zum Ausgangspunkt dieser Versuche gewordene Annahme, daß Probenecid nicht nur den cerebralen 5-HIAA Gehalt, sondern auch die 5-HT Konzentration ansteigen läßt. Während der Konzentrationsanstieg der 5-Hydroxy-Indolessigsäure nicht umstritten ist, fanden einige Autoren, daß Probenecid den 5-HT Umsatz nicht beeinflußt (Barkai et al., 1972; Korf et al., 1972).

Die vorliegenden Resultate entsprechen nicht dieser Auffassung, worauf das unterschiedliche 5-HT/5-HIAA-Verhältnis hindeutet. Offensichtlich wirkt sich die Blockade des Transports von 5-HIAA aus dem

Gehirn auch auf den cerebralen 5-HT Spiegel aus. Dafür sprechen die signifikanten Unterschiede, die bei den 5-HT Konzentrationen nachgewiesen wurden. Es ist denkbar, daß dieser Effekt über eine Störung biochemischer Gleichgewichtszustände erreicht wird. Möglicherweise nimmt die Aktivität der MAO infolge eines 5-HIAA-Überschusses ab, was eine Konzentrationszunahme von 5-HT zur Folge hätte, ein Sachverhalt also, der das Massenwirkungsgesetz erfüllt.

Abgesehen von der bedingten Vergleichbarkeit der Resultate erscheint die experimentelle Methodik von Korf et al. (1972) fragwürdig. Diese Autoren applizierten Probenecid in Verbindung mit Pargylin, einem Hemmstoff des Enzyms MAO, und Pargylin allein. Die cerebralen 5-HT Konzentrationen der beiden unterschiedlich behandelten Versuchstiergruppen differierten nicht voneinander, woraus die Autoren schlußfolgern, daß Probenecid keinen Einfluß auf den 5-HT Umsatz ausübt. Die Wirkung von Probenecid per se wurde aber nicht untersucht, obwohl völlig verschiedene Wirkungsmechanismen zugrunde liegen. Es ist allerdings auch möglich, daß der 5-HT Anstieg erst bei einer subchronischen Behandlung eintritt, wie sie in unserem Experiment durchgeführt wurde. Eine Aufklärung dieses Sachverhaltes erfordert jedenfalls weitere Untersuchungen.

7. Besprechung der durchgeführten Experimente (General-Diskussion)

Mögliche Wechselwirkungen zwischen Äthylalkohol und dem cerebralen Serotoninstoffwechsel sind in der Vergangenheit vielfach tierexperimentell untersucht worden. Da sich die Ergebnisse augenblicklich noch widersprechen, sind sie nicht von vornherein als Anknüpfungspunkt für weiterführende Untersuchungen brauchbar. Die meisten quantitativen Bestimmungen von 5-HT wurden nach akuter oder chronischer Alkoholzufuhr in unterschiedlicher Dosierung und bei verschiedenen Rattenstämmen vorgenommen, so daß die einzelnen Ergebnisse nur bedingt vergleichbar sind. Unberücksichtigt blieb auch eine Differenzierung des natürlichen Präferenzverhaltens. Unsere Experimente haben in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Ahtee u. Eriksson (1972) gezeigt, daß die Gleichgewichtskonzentration von 5-HT im Gehirn alkoholpräferenter Ratten höher ist als bei Tieren des gleichen Stammes, die Alkohol ablehnen. Zwingt man diese Tiere, Alkohol zu trinken, dann bleiben die 5-HT Werte unverändert. Andererseits fanden wir im Gehirn von Ratten, die Alkohol bevorzugen, höhere 5-HT Konzentrationen, und dies trotz dreitägiger Abstinenz. Diese Beobachtung ist ein gewichtiges Indiz für die Annahme, daß zwischen cerebralem 5-HT Stoffwechsel und Präferenzverhalten ein Zusammenhang besteht. Die eindeutig positive Korrelation zwischen dem Grad der Präferenz, der durch den täglichen Alkoholkonsum erfaßbar ist, und dem 5-HT level im Gehirn bestätigt diesen Sachverhalt. Ahtee u. Eriksson (1972) konnten bei Ratten, denen Vorliebe für Alkohol als genetisches Merkmal anhaftet nachweisen, daß freiwilliger Alkoholkonsum den cerebralen 5-HT Gehalt weiter ansteigen läßt. Zwischen der freiwilligen Alkoholaufnahme und dem cerebralen 5-HIAA Gehalt ergab sich bei unseren Versuchen eine negative Korrelation. Der derzeitige Kenntnisstand über die Funktionsweise des serotoninergeren Neurotransmittersystems erlaubt bei theoretischer Betrachtungsweise folgende Möglichkeiten:

1. Ein höherer 5-HT level kann durch eine höhere Biosyntheserate zustande kommen, die letztlich durch den Tryptophanpool und die Aktivität der Tryptophanhydroxylase limitiert ist. Man würde dann allerdings einen korrespondierenden 5-HIAA Anstieg erwarten, der durch unsere Untersuchungen aber nicht bestätigt wird.

2. Es ist denkbar, daß beim alkoholpräferenten Tier die Freisetzung von 5-HT aus den Speichergranula in den synaptischen Spalt behindert ist. Die Folge wäre ein Konzentrationsanstieg von 5-HT und eine Abnahme des 5-HIAA Gehaltes, weil das Enzym MAO nach einer verminderten 5-HT Freisetzung und der anschließenden Wiederaufnahme in die präganglionäre Nervenendigung weniger Substrat vorfände.
3. Als weitere Ursache muß eine Störung der Wiederaufnahme in das präganglionäre Neuron in Betracht gezogen werden, was zu einer Ansammlung von 5-HT Molekülen im synaptischen Spalt und daher auch zu einer geringeren 5-HIAA Produktion führen würde.
4. Auch ein Aktivitätsschwund des Enzyms MAO könnte dieses Phänomen erklären. In Gegenwart von Acetaldehyd und 5-Hydroxyindol-acetaldehyd könnte eine kompetitive Hemmung auftreten.

Bevor die Punkte im einzelnen diskutiert werden, sei auf jene Untersuchungen eingegangen, die sich mit der Beeinflussung der Alkoholpräferenz befaßt haben und bei welchen Pharmaka angewendet wurden, die auf serotoninerge Funktionen im ZNS einen Einfluß ausüben. Die Debatte um das tatsächliche Wirkungsprinzip wurde dadurch in Gang gesetzt, daß einerseits solche Pharmaka den freiwilligen Alkoholkonsum senkten, die den cerebralen Serotoningehalt vermindern (pCPA, Fenfluramin), andererseits derselbe Effekt aber auch dann eintritt, wenn der cerebrale 5-HT Gehalt durch Applikation des precursors 5-HTP erhöht wird. Noch verwirrender wird der Sachverhalt dadurch, daß bei einer chemischen Läsion serotoninerger Neurone durch 5,6-DHT mit gleichzeitiger 5-HT Depletion nicht eine Verminderung, sondern eine Steigerung der Alkoholaufnahme eintritt (Ho et al., 1974; Myers u. Melchior, 1975; Ho u. Kissin, 1976). Das Zustandekommen der pCPA-Wirkung wird durch Erkenntnisse plausibel, die von Jofre de Breyer (1973) gewonnen wurden. Danach besitzt pCPA bei systemischer Anwendung einen ausgeprägten Effekt auf den Abbau von Äthylalkohol in der Leber, der letztlich zu einem Anstieg von zirkulierendem Acetaldehyd im Organismus führt, einer Substanz also, die in hohem Maß gewebstoxisch ist. Vor diesem Hintergrund ist verständlich, daß eine präferente Ratte unter

der Behandlung mit pCPA die Aufnahme von Alkohol meidet (Antabus-Effekt). Auch der Wirkungsmechanismus von Fenfluramin scheint in anderen Faktoren begründet zu sein, als in einer einfachen 5-HT Depletion. Nach in vivo Experimenten von Fuxe et al. (1975) setzt Fenfluramin 5-HT aus den Speichergranula frei und hemmt die Wiederaufnahme in das Neuron. Dieser zweizügelige Effekt mag erklären, weshalb die Gleichgewichtskonzentrationen von 5-HT und 5-HIAA absinken. Fenfluramin würde demnach eine Anreicherung von 5-HT im synaptischen Spalt verursachen, was möglicherweise einem Aktivitätszuwachs der Impulsübertragung entspricht. Daß dieses Prinzip das Präferenzverhalten moduliert, läßt sich z. Z. offenbar nur auf indirektem Weg erkennen. Die vorläufige Annahme, daß dem so ist, wird zunächst durch die Beobachtung bekräftigt, daß nach einer Zerstörung serotoninerger Neurone durch intracraniale Applikation von 5,6-DHT die Vorliebe für Alkohol zunimmt (Ho et al., 1974; Myers u. Mechior, 1975).

Die Ergebnisse unserer experimentellen Untersuchungen erlauben den Schluß, daß eine Elevation der cerebralen Gleichgewichtskonzentration von 5-HT oder die Zufuhr von Substanzen mit einer serotoninergen Wirkungskomponente die Alkoholpräferenz abnehmen läßt. Diese Ansicht wird auch von anderen Autoren geteilt (Geller, 1973; Geller et al., 1973; Myers et al., 1972; Hill, 1974). Dabei gehört nach Neff et al. (1964) Probenecid zu jenen Substanzen, die über eine Behinderung des Abbau- bzw. Eliminationsweges von 5-HT zu einer Konzentrationszunahme des biogenen Amins führen. Dies wurde auch durch die kombinierte Anwendung von 5-HTP und Benserazid erreicht, wobei offenbar erst der peripher-wirkende Decarboxylase-Hemmer für den wirksamen 5-HT level im ZNS sorgte, da 5-HTP allein unwirksam blieb. Anhand dieser beiden Versuche wird außerdem deutlich, daß enorme Konzentrationsschwankungen der Serotoninvorstufe 5-HTP innerhalb kurzer Zeit ausgeglichen werden können, was auf erstaunliche metabolische Kapazitäten im ZNS hindeutet. Die Tatsache, daß die Enzyme Decarboxylase und MAO eine eingeschränkte Substratspezifität besitzen und gleichzeitig Bestandteile des cerebralen Dopamin- und Noradrenalinstoffwechsels sind, läßt diesen experimentellen Befund plausibel erscheinen.

Die Annahme, daß eine Steigerung der Gleichgewichtskonzentration von 5-HT den freiwilligen Alkoholkonsum vermindert, scheint durch das Experiment mit Org 6582 nicht bestätigt zu werden, da die Applikation dieser Substanz den 5-HT level nicht veränderte. Berücksichtigt man jedoch, daß Org 6582 nach Sugrue et al. (1970) durch eine Hemmung der Wiederaufnahme die Anzahl der 5-HT Moleküle im synaptischen Spalt und somit auch das Angebot am Rezeptor vergrößert, dann deckt sich diese Beobachtung vollkommen mit der aufgestellten These. Vorausgesetzt wird hier allerdings, daß sowohl eine cerebrale Konzentrationszunahme von 5-HT als auch ein erhöhtes 5-HT Angebot am Rezeptor mit einer gesteigerten Aktivität des serotoninerger Neurotransmittersystems einhergehen. Daß es sich tatsächlich so verhält, zeigt das modifizierte Präferenzverhalten nach Applikation von Quipazin. Diese Substanz wird als 5-HT Agonist eingestuft (Hong et al., 1969; Rodriguez et al., 1973), der eine Zunahme der Neurotransmission bewirkt. Dieses Prinzip also scheint es zu sein, das die Alkoholselektion präferenzenter Ratten unterdrückt, wofür auch der gleichgerichtete Effekt nach Behandlung mit Probenecid, Org 6582 und 5-HTP/Benserazid spricht.

Die Quantifizierung von 5-HT erlaubt keine Aussage über die dynamische Aktivität dieses biogenen Amins. Ein hoher Gehalt kann beispielsweise darauf zurückzuführen sein, daß mehr 5-HT in synaptischen Vesikeln eingespeichert vorliegt, gleichzeitig aber die Freisetzung aus den Speicherorganellen behindert ist. Dies würde bedeuten, daß trotz eines größeren Vorrats letztlich nur ein kleiner Teil der 5-HT Moleküle als Neurotransmitter aktiv werden kann, was auf eine Schwächung der synaptischen Funktion hinauslaufen würde. Die Stoffwechsellage des serotoninerger Systems im Gehirn einer alkoholpräferenten Ratte könnte demnach durch ein Aktivitätsdefizit gekennzeichnet sein. Dem entspricht die Beobachtung, daß Ratten nach einer zentralnervösen 5-HT Depletion u.U. vermehrt Alkohol trinken (Frey et al., 1971; Hill, 1971; Myers et al., 1972; Geller, 1973; Geller et al., 1973). Umgekehrt führt eine künstlich herbeigeführte Überflutung des Gehirns mit 5-HT zu vermindertem Alkoholkonsum (Myers et al., 1972; Geller, 1973; Zabik et al., 1978). Im Sinne des biogenen Amins sind auch solche Substanzen wirksam, die, wie Org 6582, durch eine Hemmung der Wiederaufnahme die Bildung des

5-HT Rezeptorkomplexes begünstigen oder, wie Quipazin, selbst als 5-HT Agonisten fungieren, also den funktionellen Defekt direkt oder indirekt beseitigen. Der scheinbare Widerspruch zwischen einem vergleichsweise hohen 5-HT Gehalt im Gehirn alkoholpräferenter Ratten und der zunehmenden Alkoholabneigung nach Probenecid läßt sich mit Hilfe der aufgestellten These lösen.

Zu diskutieren bleibt noch, welches Prinzip der ausgeprägten Alkoholpräferenz einiger Individuen in einer natürlichen Population zugrunde liegt, wobei die bisherigen Erkenntnisse eher als Arbeitshypothese zu werten sind. Im Fall einer gesteigerten 5-HT Biosyntheserate würde man nach unseren Beobachtungen einen korrespondierenden 5-HIAA Anstieg erwarten, der jedoch durch die negative Korrelationsbeziehung zwischen der 5-HIAA Konzentration und dem Präferenzgrad nicht bestätigt wird. Auch eine Störung der Wiederaufnahme von 5-HT kommt nicht in Frage, weil eben dieser Wirkungsmechanismus zu verminderter und nicht etwa zu gesteigerter Alkoholselektion führt, wie im Experiment mit Org 6582 gezeigt wurde. Gegen eine kompetitive Hemmung des Enzyms MAO als mögliche Ursache sprechen die von uns ermittelten 5-HIAA Konzentrationen nach Applikation von 5-HTP plus Benserazid. Was bestehen bleibt, ist die Annahme, daß die Freisetzung von 5-HT aus den Speichergranula behindert ist. Die zugrundeliegenden Vorgänge sind der direkten Beobachtung noch nicht zugänglich, so daß augenblicklich nur experimentelle Methoden der indirekten Beweisführung einen Fortschritt erbringen können. Hierbei erweisen sich solche Pharmaka als nützliche "wissenschaftliche Werkzeuge", die wirkungsspezifisch bestimmte Funktionen des serotoninergen Neurotransmittersystems verändern. Unter diesem Aspekt stützt eine vergleichende Betrachtung der Wirkungsmechanismen von Probenecid, Org 6582, Quipazin und 5-HTP plus Benserazid in Verbindung mit den quantitativen Gegebenheiten von 5-HT und 5-HIAA im Gehirn alkoholpräferenter Ratten die Annahme einer behinderten Freisetzung des Neurotransmitters als Grundlage der Alkoholpräferenz.

ZUSAMMENFASSUNGTeil I

Vergleich von Methoden zur Präferenzinduktion für Alkohol bei Ratten

1. Die Methode der intragastrischen Applikation von 20 %igem Alkohol führte bei gegebenem Dosierungsschema nicht zu nennenswerter Alkoholpräferenz (Vorliebe für verdünnten Alkohol in Gegenwart von Wasser).
2. Die Methode der erzwungenen Aufnahme von verdünntem Äthylalkohol im Verlauf von 35 Tagen bewirkte nachfolgend eine beträchtliche Steigerung der Alkoholpräferenz, wenn 3 %iger, nicht aber wenn 6 %iger Alkohol verwendet wurde. Dieses Verfahren führte auch bei weiteren Versuchen zu andauernder Alkoholpräferenz mit einem täglichen Durchschnittsverbrauch von 3 g reinem Alkohol pro Kilogramm Körpergewicht.

Teil II

Alkoholpräferenz und cerebraler Serotoninstoffwechsel

1. Zwischen dem individuellen Präferenzgrad und der cerebralen Konzentration des Neurotransmitters Serotonin (5-HT) wurde bei weiblichen Ratten eine positive Korrelation ermittelt. Für den 5-HT Metaboliten 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) ergab sich eine Korrelation mit negativem Vorzeichen.
2. Im Gehirn alkoholpräferenter Ratten fanden wir trotz dreitägiger Alkoholabstinenz signifikant mehr 5-HT als bei nichtpräferenten Tieren nach dreitägigem Alkoholzwang.
3. Die systemische Applikation der Serotoninvorstufe 5-Hydroxytryptophan (5-HTP) führte in Dosen von 30 mg und 60 mg/kg zwar zu einer Zunahme der cerebralen 5-HT und 5-HIAA Konzentration, nicht aber zu Veränderungen des Präferenzverhaltens.
4. Die zusätzliche Verabreichung des peripher wirkenden Decarboxylase-Hemmers Benserazid-HCl (Ro 4-4602/1) ließ den prozentualen Anteil des freiwillig aufgenommenen Alkohols am Gesamtflüssigkeitsverbrauch zurückgehen.
5. Der cerebral angreifende 5-HT Agonist Quipazin verminderte die freiwillige Alkoholaufnahme von Ratten. Nach Beendigung der Applikation trat wieder das ursprüngliche Präferenzverhalten ein.
6. Organon 6582, ein Hemmstoff der Wiederaufnahme von 5-HT in das präganglionäre Neuron, verursachte eine ausgeprägte Verminderung der freiwillig aufgenommenen Alkoholmengen.
7. Die Substanz Probenecid, die den Transport von 5-HIAA aus dem Gehirn behindert, führte zu einer Zunahme der cerebralen 5-HT Konzentration und gleichzeitig zu einer Abnahme der freiwilligen Alkoholaufnahme. Dieser Effekt überdauerte die Behandlung.

Aus den gewonnenen Ergebnissen wird gefolgert, daß die Stimulierung serotoninerger Rezeptoren im ZNS eine Abnahme der Alkoholpräferenz bewirkt. Als Ursache für die erhöhten 5-HT Konzentrationen im Gehirn von Ratten mit einer spontanen Vorliebe für verdünnten Alkohol wird eine verminderte Freisetzung von 5-HT aus den synaptischen Vesikeln vermutet.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AHTEE, L. and K. ERIKSSON
5-Hydroxytryptamine and 5-hydroxyindolylacetic acid
content in brain of rat strains selected for their
alcohol intake.
Physiol. Behav., 8, 123-126 (1972).
2. AHTEE, L. and K. ERIKSSON
Regional distribution of brain 5-hydroxytryptamine in
rat strains selected for their alcohol intake.
Ann. N.Y. Acad.Sci., 215, 126-134 (1973).
3. BARKAI, A., M. GLUSMAN and M.M. RAPPAORT
Serotonin turnover in the intact cat brain.
J. Pharmacol. exp. Ther., 181, 28-35 (1972).
4. BARTHOLINI, G., W.P. BURKARD, A. PLETSCHER and H. M. BATES
Increase of cerebral catecholamines caused by 3,4-di-
hydroxyphenylalanine after inhibition of peripheral
decarboxylase.
Nature (Lond.), 215, 852-853 (1967).
5. BAUMGARTEN, H. G., A. BJÖRKLUND, A. LACHENMAYER, A. NOBIN
and A. STENEVI
Long-lasting selective depletion of brain serotonin by
5,6-dihydroxytryptamine.
Acta physiol. scand., Suppl. 373, 84, 1-15 (1971).
6. BLASCHKO, H. and W. G. LEVINE
Metabolism of indolealkylamines.
In: Erspamer, V., (ed.): 5-Hydroxytryptamine and Related
Indolealkylamines
Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 19,
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1966, 212-244.

7. BOGDANSKI, D. F., H. WEISSBACH and S. UDENFRIEND
Pharmacological studies with the serotonin precursor,
5-hydroxytryptophan.
J. Pharmacol. exp. Ther., 122, 182-194 (1958).
8. BONNYCASTLE, D. D., M. F. BONNYCASTLE and E. G. ANDERSON
The effect of a number of central depressant drugs
upon brain 5-hydroxytryptamine levels in the rat.
J. Pharmacol. exp. Ther., 135, 17-20 (1962).
9. BRUGER, M.
The effects of alcohol on the normal and pathologic
kidney: a review.
Quart. J. Stud. Alcohol, 1, 85-94 (1940).
10. CANNON, D. S., T. B. BAKER, R. F. BERMAN and C. A. ATKINSON
A rapid technique for producing ethanol dependence in
the rat.
Pharmacol. Biochem. Behav., 2, 831-834 (1974).
11. CICERO, T. J. and B. R. SMITHLOFF
Alcohol oral self-administration in rats: attempts to
elicit excessive intake and dependence.
In: Gross, M. M. (ed.): Alcohol Intoxication and
Withdrawal I: Experimental Studies,
Plenum Press, New York-London, 1973, 213-224.
12. CLINESCHMIDT, B. V., A. G. ZACCHEI, J. A. TOTARO, A. B. PFLUEGER,
J. C. MC GUFFIN and T. I. WISHOUSKY
Fenfluramine and brain serotonin.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 305, 222-241 (1978).
13. COSTA, E., A. GROPPETTI and A. REVUELTA
Action of fenfluramine on monoamine stores of rat tissues.
Brit. J. Pharmacol. 41, 57-64 (1971).
14. CURZON, G. and A. R. GREEN
Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine
and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of rat brain.
Brit. J. Pharmacol., 39, 653-655 (1970).

15. DEUTSCH, J. A. and H. S. KOOPMANS
Preference enhancement for alcohol by passive exposure.
Science, 179, 1242-1243 (1973).
16. DEUTSCH, J. A. and N. Y. WALTON
A rat alcoholism model in a free choice situation.
Behav. Biol., 19, 349-360 (1977).
17. DUHAULT, J. et C. VERDAVAINNE
Modification du taux de serotonine cerebrale chez le
rat par les trifluoro-methyl-phenyl-2-ethyl aminopropane
(Fenfluramine 768 S).
Arch. int. Pharmacodyn., 170, 276-286 (1967).
18. ERFON, D. H. and G. L. GESSA
Failure of ethanol and barbiturates to alter the content
of brain 5 HT and NE.
Biochem. Pharmacol., 8, 172 only (1961).
19. EFRON, D. H. and G. L. GESSA
Failure of ethanol and barbiturates to alter brain monoamine
content.
Arch. int. Pharmacodyn., 142, 111-116 (1963).
20. ERIKSSON, K.
Genetic selection for voluntary alcohol consumption
in the albino rat.
Science, 159, 739-741 (1968).
21. ESSIG, C. F.
Increased water consumption following forced drinking
of alcohol in rats.
Psychopharmacologia (Berl.), 12, 333-337 (1968).
22. ESSIG, C. F. and R. C. LAM
Convulsions and hallucinatory behavior following alcohol
withdrawal in the dog.
Arch. neurol. (Chic.), 18, 626-632 (1968).

23. FALK, J. L.
Production of polydipsia in normal rats by an
intermittent food schedule.
Science, 133, 195-196 (1961).
24. FALK, J. L., H. M. SAMSON and G. WINGER
Behavioral maintenance of high concentrations of
blood ethanol and physical dependence in the rat.
Science, 177, 811-813 (1972).
25. FELDBERG, W.
The monoamines of the hypothalamus as mediators of
temperature responses.
In: Robson, J. M. and R. S. Stacey (eds.): Recent
Advances in Pharmacology, 4th ed.,
J. & A. Churchill, Ltd. New York 1968, 349-397.
26. FELDSTEIN, A. and C. M. SIDEL
The effect of ethanol on the in vivo conversion of
5-HTP-¹⁴C to serotonin-¹⁴C, 5-hydroxyindoleacetal-
dehyde-¹⁴C and its metabolites in rat brain.
Int. J. Neuropharmacol. 8, 347-351 (1969).
27. FERNSTROM, J. D. and R. J. WURTMAN
Brain serotonin content: physiological dependence on
plasma tryptophan levels.
Science, 173, 149-152 (1971).
28. FORSANDER, O. A.
Influence of ethanol on the redox state of the liver.
Quart. J. Stud. Alcohol, 31, 550-570 (1970).
29. FRANKEL, D., J. M. KHANNA, H. KALANT and A. E. LE BLANC
Effect of acute and chronic ethanol administration on
serotonin turnover in rat brain.
Psychopharmacologia (Berl.), 37, 91-100 (1974).

30. FREUND, G.
Induction of physical dependence on alcohol in rodents.
In: E. Majchrowicz, (ed.): Biochemical Pharmacology
of Ethanol,
Plenum Press, New York-London, 1975, 311-325.
31. FREY, H.-H., M. P. MAGNUSSEN and C. KAERGAARD-NIELSEN
The effect of p-chloroamphetamine on the consumption
of ethanol by rats.
Arch. int. Pharmacodyn., 183, 165-172 (1970).
32. FRIEDMAN, H. J. and D. LESTER
A critical review of progress towards an animal model
of alcoholism.
In: K. Blum (ed.): Alcohol and Opiates: Neurochemical
and Behavioral Mechanisms
Academic Press, New York-San Francisco-London, 1977, 1-19.
33. FULLER, J. L.
Measurement of alcohol preference in genetic experiments.
J. comp. physiol. Psychol., 57, 85-88 (1964).
34. FULLER, R. W., C. W. HINES and J. MILLS
Lowering of brain serotonin level by chloramphetamines.
Biochem. Pharmacol., 14, 483-488 (1965).
35. FULLER, R. W., H. D. SNODDY, K. W. PERRY, B. W. ROUSH, B. B. MOLLOY,
F. P. BYMASTER and D. T. WONG
The effects of quipazine on serotonin metabolism in rat brain.
Life Sci., 18, 925-933 (1976).
36. FUXE, K., L.-O. FARNEBO, B. HAMBERGER and S.-O. ØGREN
On the "in vivo" and "in vitro" actions of fenfluramine
and its derivatives on central monoamine neurons, especially
5-hydroxytryptamine neurons, and their relation to the
anorectic activity of fenfluramine.
Postgrad. med. J., 51, Suppl. 1, 35-45 (1975).

37. GELLER, I.
Effects of para-chlorophenylalanine and 5-hydroxytryptophan
on alcohol intake in the rat.
Pharmacol. Biochem. Behav., 1, 361-365 (1973).
38. GELLER, I., R. PURDY and J. H. MERRITT
Alterations in ethanol preference in the rat: the role
of brain biogenic amines.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 215, 54-59 (1973).
39. GHEZZI, D., R. SAMANIN, S. BERNASCONI, G. TOGNONI, M. GERNA
and S. GARATTINI
Effects of thymoleptics on fenfluramine-induced depletion
of brain serotonin in rats.
Eur. J. Pharmacol., 24, 205-210 (1973).
40. GIACALONE, E. and L. VALZELLI
A spectrofluorometric method for the simultaneous
determination of 2-(5-hydroxyindol-3-yl) ethylamine
(serotonin) and 5-hydroxyindol-5-yl-acetic acid in the brain.
Pharmacology, 2, 171-175 (1969).
41. GILLESPIE, R. J. G. and C. C. LUCAS
An unsuspected factor which influences consumption
of alcohol by rats.
Nature (Lond.), 180, 1292-1293 (1957).
42. GOODLET, I., S. E. MIREYLEES and M. F. SUGRUE
The selective inhibition of 5-hydroxytryptamine re-uptake
by Org 6582.
Brit. J. Pharmacol., 56, 367P-368P (1976).
43. GURSEY, D. and R. E. OLSON
Depression of serotonin and norepinephrine levels
in brain stem of rabbit by ethanol.
Proc. Soc. exp. Biol., 104, 280-281 (1960).

44. GURSEY, D., J. W. VESTER and R. E. OLSON
Effect of ethanol administration upon serotonin and
norepinephrine levels in rabbit brain.
J. clin. Invest., 38, 1008-1009 (1959).
45. HÄGGENDAL, J. and M. LINDQVIST
Ineffectiveness of ethanol on noradrenaline, dopamine
or 5-hydroxytryptamine levels in brain.
Acta pharmacol., 18, 278-280 (1961).
46. HILL, S. Y.
A serotonin hypothesis of alcohol consumption in
experimental animals.
Ph. D. Dissertation, 1971, Washington University.
47. HILL, S. Y.
Intraventricular injection of 5-hydroxytryptamine
and alcohol consumption in rats.
Biol. Psychiatry, 8, 151-158 (1974).
48. HILLBOM, M. E.
The prevention of ethanol withdrawal seizures in
rats by dipropylacetate.
Neuropharmacology, 14, 755-761 (1975).
49. HO, A. K. S. and B. KISSIN
Drug induced alterations on alcohol preference
and withdrawal.
In: Ford, D. H. and D. H. Clouet (eds.):
Tissue Responses to Addictive Drugs,
Spectrum Publications, New York-Toronto-London-Sydney,
1976, 447-459.
50. HO, A. K. S., C. S. TSAI, R. C. A. CHEN, H. BEGLEITER
and B. KISSIN
Experimental studies on alcoholism I: Increased in alcohol
preference by 5,6-dihydroxytryptamine and brain acetyl-
choline.
Psychopharmacologia (Berl.), 40, 101-107 (1974).

51. HOLMAN, R. B., V. HOYLAND and E. E. SHILLITO
The failure of p-chlorophenylalanine to affect voluntary alcohol consumption in rats.
Brit. J. Pharmacol., 53, 299-304 (1975).
52. HONG, E., L. F. SANCILIO, R. VARGAS and E. G. PARDO
Similarities between the pharmacological actions of quipazine and serotonin.
Eur. J. Pharmacol., 6, 274-280 (1969).
53. HUNT, W. A.
Changes in the neuro-excitability of alcohol dependent rats undergoing withdrawal as measured by the pentylenetetrazol seizure threshold.
Neuropharmacology, 12, 1097-1102 (1973).
54. HUNT, W. A. and E. MAJCHROWICZ
Turnover rates and steady-state levels of brain serotonin in alcohol-dependent rats.
Brain Res., 72, 181-184 (1974).
55. JELLINEK, E. M.
The Disease Concept of Alcoholism.
Hillhouse Press, New Brunswick 1960.
56. JEQUIER, E., W. LOVENBERG and A. S. JOERDSMA
Tryptophan hydroxylase inhibition: the mechanism by which p-chlorophenylalanine depletes rat brain serotonin.
Mol. Pharmacol., 3, 274-278 (1967).
57. JOFRE DE BREYER, I. J.
Influence of ethanol on the effects of D,L-p-chlorophenylalanine in vitro.
Arzneimittel-Forsch., 23, 954-956 (1973).
58. KAHN, M. and E. STELLAR
Alcohol preference in normal and anosmic rats.
J. comp. physiol. Psychol., 53, 571-575 (1960).

59. KALANT, H.
Some recent physiological and biochemical investigations
on alcohol and alcoholism.
Quart. J. Stud. Alcohol, 23, 52-93 (1962).
60. KOE, B. K. and A. WEISSMAN
p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin.
J. Pharmacol. exp. Ther., 154, 499-516 (1966).
61. KORF, J., H. M. VAN PRAAG and J. B. SEBENS
Serum tryptophan decreased, brain tryptophan increased
and brain serotonin synthesis unchanged after probenecid
loading.
Brain Res., 42, 239-242 (1972).
62. KORF, J., K. VENEMA and F. POSTEMA
Decarboxylation of exogenous L-5-hydroxytryptophan
after destruction of the cerebral raphe system.
J. Neurochem., 23, 249-252 (1974).
63. LE BOURHIS, B.
Sur l'établissement de la dépendance des rats a
l'égard de l'alcool.
Physiol. Behav., 18, 475-478 (1977).
64. LESTER, D.
Self-maintenance of intoxication in the rat.
Quart. J. Stud. Alcohol, 22, 223-231 (1961).
65. LESTER, D. and E. X. FREED
Theoretical review: Criteria for an animal model
of alcoholism.
Pharmacol. Biochem. Behav., 1, 103-107 (1973).
66. MAJCHROWICZ, E.
Induction of physical dependence upon ethanol and
the associated behavioral changes in rats.
Psychopharmacologia (Berl.), 43, 245-254 (1975).

67. MARDONES, J.
Experimentally induced changes in the free selection
of ethanol.
In: Pfeifer, C. C. and J. R. Smythies (eds.): International
Review of Neurobiology. Vol. 2.
Academic Press, New York-San Francisco-London 1960, 41-76.
68. MILLS, K. C., J. W. BEAN and J. S. HUTCHESON
Shock induced ethanol consumption in rats.
Pharmacol. Biochem. Behav., 6, 107-115 (1977).
69. MIREYLEES, S. E., I. GOODLET and M. F. SUGRUE
Effects of Org 6582 on monoamine uptake in vitro.
Biochem. Pharmacol., 27, 1023-1027 (1978).
70. MOIR, A. T. B. and D. ECCLESTON
The effects of precursor loading in the cerebral
metabolism of 5-hydroxyindoles.
J. Neurochem., 15, 1093-1108 (1968).
71. MUCHA, R. F., J. P. J. PINEL and P. H. VAN OOT
Simple method for producing an alcohol withdrawal
syndrome in rats.
Pharmacol. Biochem. Behav., 3, 765-769 (1975).
72. MYERS, R. D.
Changes in learning, extinction, and fluid preferences
as a function of chronic alcohol consumption in rats.
J. comp. physiol. Psychol., 54, 510-516 (1961).
73. MYERS, R. D.
Effects of meprobamate on alcohol preference and on the
stress of response extinction in rats.
Psychol. Rep., 8, 385-392 (1961).
74. MYERS, R. D.
Alcohol consumption in rats: effects of intracranial
injections of ethanol.
Science, 142, 240-241 (1963).

75. MYERS, R. D.
Voluntary alcohol consumption in animals: peripheral and intracerebral factors.
Psychosom. Med., 28, 484-497 (1966).
76. MYERS, R. D. and R. CAREY
Preference factors in experimental alcoholism.
Science, 134, 469-470 (1961).
77. MYERS, R. D., J. E. EVANS and T. L. YAKSH
Ethanol preference in the rat: interactions between brain serotonin and ethanol, acetaldehyde, paraldehyde, 5-HTP and 5-HTOL.
Neuropharmacology, 11, 539-549 (1972).
78. MYERS, R. D. and R. B. HOLMAN
A procedure for eliminating position habit in preference-aversion tests for ethanol and other fluids.
Psychon. Sci., 6, 235-236, (1966).
79. MYERS, R. D. and R. B. HOLMAN
Failure of stress of electric shock to increase ethanol intake in rats.
Quart. J. Stud. Alcohol, 28, 132-137 (1967).
80. MYERS, R. D. and C. L. MELCHIOR
Dietary tryptophan and the selection of ethyl alcohol in different strains of rats.
Psychopharmacologia (Berl.), 42, 109-115 (1975).
81. MYERS, R. D. and C. L. MELCHIOR
Alcohol drinking in the rat after destruction of serotonergic and catecholaminergic neurons in the brain.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 10, 363-378 (1975).
82. MYERS, R. D. and W. L. VEALE
Alcohol preference in the rat: reduction following depletion of brain serotonin.
Science, 160, 1469-1471 (1968).

83. MYERS, R. D. and W. L. VEALE
Alterations in volitional alcohol intake produced in rats
by chronic intraventricular infusions of acetaldehyde,
paraldehyde or methanol.
Arch. int. Pharmacodyn., 180, 100-113 (1969).
84. NACHMAN, M., C. LARUE and J. LE MAGNEN
The role of olfactory and orosensory factors in the
alcohol preference of inbred strains of mice.
Physiol. Behav., 6, 53-59 (1971).
85. NACHMAN, M., D. LESTER and J. LE MAGNEN
Alcohol aversion in the rat: behavioral assessment
of noxious drug effects.
Science, 168, 1244-1246 (1970).
86. NEFF, N. H., T. N. TOZER and B. B. BRODIE
A specialized transport system to transfer 5-HIAA
directly from brain to blood.
Pharmacologist, 6, 162 only (1964).
87. NEFF, N. H., T. N. TOZER and B. B. BRODIE
Application of steady-state kinetics to studies of
the transfer of 5-hydroxyindoleacetic acid from brain
to plasma.
J. Pharmacol. exp. Ther., 158, 214-218 (1967).
88. NOBLE, E. P., R. GILLIES, R. VIGRAN and P. MANDEL
The modification of the ethanol withdrawal syndrom
in rats by di-n-propylacetate.
Psychopharmacologia (Berl.), 46, 127-131 (1976).
89. OPITZ, K.
Anorexigene Phenylalkylamine und Serotoninstoffwechsel.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. u. exp. Path.,
259, 56-65 (1967).
90. OPITZ, K.
Beobachtungen bei Alkohol trinkenden Ratten - Einfluß
von Fenfluramin.
Pharmakopsychiatr. Neuropsychopharmakol., 2, 202-205 (1969).

91. OPITZ, K.
Effect of fenfluramine on alcohol and saccharin consumption in the rat.
S. Afr. med. J. 46, 742-744 (1972).
92. OPITZ, K.
Volitional ethanol intake and ethanol preference in hamsters: drug-induced alterations.
IRCS Med. Sci., 5, 468 only (1977).
93. PAASONEN, M. K. and N. J. GIARMAN
Brain levels of 5-hydroxytryptamine after various agents.
Arch. int. Pharmacodyn., 114, 189-200 (1958).
94. PALAIC, D., J. DESATY, J. M. ALBERT and J. C. PANISSET
Effect of ethanol on metabolism and subcellular distribution of serotonin in rat brain.
Brain Res., 25, 381-386 (1971).
95. PENN, P. E., W. J. MCBRIDE, L. LUMENG, T.M. GAFF and T.-K. LI
Neurochemical and operant behavioral studies of a strain of alcohol-preferring rats.
Pharmacol. Biochem. Behav., 8, 475-481 (1978).
96. PLETSCHER, A., W. P. BURKARD and K. F. GEY
Decrease of cerebral 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxy-indoleacetic acid by an arylalkylamine.
Life Sci., 2, 828-833 (1963).
97. PSCHIEDT, G. R., B. ISSEKUTZ and H. E. HIMWICH
Failure of ethanol to lower brain stem concentration of biogenic amines.
Quart. J. Stud. Alcohol, 22, 550-553 (1961).
98. RICHTER, C. P.
A study of the effect of moderate doses of alcohol on the growth and behavior of the rat.
J. exp. Zool., 44, 397-418 (1926).

99. RICHTER, C. P.
Alcohol, beer and wine as foods.
Quart. J. Stud. Alcohol, 14, 525-539 (1953).
100. RICHTER, C. P.
Loss of appetite for alcohol and alcoholic beverages
produced in rats by treatment with thyroid preparations.
Endocrinology, 59, 472-478 (1956).
101. RICHTER, C. P. and K. H. CAMPBELL
Alcohol taste thresholds and concentrations of solution
preferred by rats.
Science, 91, 507-508 (1940).
102. RICK, J. T. and C. W. WILSON
Alcohol preference in the rat: its relationship to
total fluid consumption.
Quart. J. Stud. Alcohol, 27, 447-458 (1966).
103. RILEY, A. L. and C. M. CLARKE
Conditioned taste aversions: a bibliography.
In: Barker, L. M., M. R. Best and M. Domjan
(ed.): Learning Mechanisms in Food Selection.
Baylor University Press, Dallas, TX 1977, 593-616 (632 refs).
104. RODRIGUEZ, R., J. A. ROJAS-RAMIREZ and R. R. DRUCKER-COLIN
Serotonin-like actions of quipazine on the central
nervous system.
Eur. J. Pharmacol., 24, 164-171 (1973).
105. RODRIGUEZ, R. and E. G. PARDO
Quipazine, a new type of antidepressant agent.
Psychopharmacologia (Berl.), 21, 89-100 (1971).
106. RONDEAU, D. B., M. J. WAYNER and F. B. JOLICOEUR
Modification of ethanol preference in the rat by chronic
administration of phenobarbital.
In: Seixas, F. A. (ed.): Currents in Alcoholism. Vol. 1,
Grune & Stratton, New York-San Francisco-London 1977, 69-79.

107. RUBINI, M. E., C. R. KLEEMAN and E. LAMBIN
Studies on alcohol diuresis. I. The effect of ethyl alcohol ingestion on water, electrolyte and acid-base metabolism. *J. clin. Invest.*, 34, 439-447 (1955).
- 108a. SAMANIN, R., C. BENDOTTI, G. CANDELAESI and S. GARATTINI
Specificity of serotonergic involvement in the decrease of food intake induced by quipazine in the rat. *Life Sci.*, 21, 1259-1266 (1977).
- 108b. SAMANIN, R., C. BENDOTTI, F. MIRANDA and S. GARATTINI
Decrease of food intake by quipazine in the rat: relation of serotonergic receptor stimulation. *J. Pharm. Pharmacol.*, 29, 53-54 (1977).
109. SAMSON, H. H. and J. L. FALK
Alteration of fluid preference in ethanol-dependent animals. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 190, 365-376 (1974).
110. SANDERS-BUSH, E., J. A. BUSHING and F. SULSER
p-Chloroamphetamine-inhibition of central thryptophan hydroxylase. *Biochem. Pharmacol.*, 21, 1501-1510 (1972).
111. SEEVERS, M. H. and G. A. DENEAU
Physiological aspects of tolerance and physical dependence. In: Root, W. S. and F. G. Hofmann (eds.): *Physiological Pharmacology*, Vol. 1; Academic Press, New York-San Francisco-London 1963, 565-640.
112. SPRINCE, H., C. M. PARKER, G. G. SMITH and L. J. GONZALES
Alcoholism: biochemical and nutritional aspects of brain amines, aldehydes, and amino acids. *Nutritional Reports International*, 5, 185-200 (1972).

113. SUGRUE, M. F., I. GOODLET and S. E. MIREYLEES
On the selective inhibition of serotonin uptake in vivo
by Org 6582.
Eur. J. Pharmacol., 40, 121-130 (1976).
114. TYCE, G. M., E. V. FLOCK and C. A. OWEN
5-Hydroxytryptamine metabolism in brains of ethanol-
intoxicated rats.
Mayo Clin. Proc., 43, 668-673 (1968).
115. TYCE, G. M., E. V. FLOCK, W. F. TAYLOR and C. A. OWEN
Effect of ethanol on 5-hydroxytryptamine turnover in
rat brain.
Proc. Soc. exp. Biol., 134, 40-44 (1970).
116. TYTELL, M. and R. D. MYERS
Metabolism of (^{14}C) serotonin in the caudate nucleus, hypo-
thalamus and reticular formation of the rat after ethanol
administration.
Biochem. Pharmacol., 22, 361-372 (1973).
117. VAN DYKE, H. B. and R. G. AMES
Alcohol diuresis.
Acta endocr. (Kbh.), 7, 110-121 (1951).
118. VEALE, W. L. and R. D. MYERS
Increased alcohol preference in rats following
repeated exposures to alcohol.
Psychopharmacologia (Berl.), 15, 361-372 (1969).
119. WAHLSTRÖM, G.
Increased penetration of barbital through the blood-
brain barrier in the rat after pretreatment with probenecid.
Acta pharmacol., 43, 260-265 (1978).
120. WALLGREN, H.
Neurochemical aspects of tolerance to and dependence
on ethanol.
In: Gross, M. M. (ed.): Alcohol Intoxication and Withdrawal I,
Experimental Studies,
Plenum Press, New York, 1973, 15-32.

121. WEIL-MALHERBE, H.
The biochemistry of affective disorders
In: Lajtha, A. (ed.): Handbook of Neurochemistry, Vol. 7,
Plenum Press, New York, 1972, 371-416.
122. WERDINIUS, B.
Effect of probenecid on the level of homovanillic acid
in the corpus striatum.
J. Pharm. Pharmacol., 18, 546-547 (1966).
123. WILLIAMS, R. J.
Alcoholism - the Nutritional Approach.
University of Texas Press, Austin 1959.
124. WILLIAMS, R. J., L. J. BERRY and E. BEERSTECHEER
Genetotrophic diseases; alcoholism.
Tex. Rep. Biol. Med., 8, 238-256 (1950).
125. WOLLEY, D. W.
The Biochemical Basis of Psychoses; or the Serotonin
Hypothesis about Mental Illness.
John Wiley and Sons Inc., New York 1962.
126. YANAGITA, T.
Brief review on the use of self-administration techniques
for predicting drug dependence potential.
In: Thompson, T. and K. R. Unna (eds.): Predicting
Dependence Liability of Stimulant and Depressant Drugs.
University Park Press, Baltimore-London-Tokyo, 1976,
231-242.
127. ZABIK, J. E., S.-S. LIAO, M. JEFFREYS and R. P. MAICKEL
The effects of DL-hydroxytryptophan on ethanol
consumption by rats.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 20, 69-78 (1978).

Für die Überlassung des Themas, die fachliche Beratung und die bereitwillige Unterstützung danke ich herzlich Herrn Prof. Dr. med. K. Opitz.

Zu danken habe ich ferner Herrn Prof. Dr. med. F. H. Kemper, Direktor des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Münster, der die Durchführung der Untersuchungen ermöglichte und die materiellen Voraussetzungen dafür gewährte.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. R. Samanin vom Istituto di Ricerche farmacologiche "MARIO NEGRI", Mailand, für die Unterweisung in der biochemischen Analytik des Serotonins und der 5-Hydroxyindolessigsäure.

Die Versuchssubstanzen wurden freundlicherweise von den Firmen Hoffmann-La Roche, Miles Laboratories und Organon Great Britain zur Verfügung gestellt.

Persönliche Daten

Name: Albrecht Schuh

Geburtsdatum: 01. April 1949 in Fulda
und -ort

Eltern: Dr. med. Wilhelm Schuh und Frau Irmgard,
geb. Baier

Schulbildung

April 1955 bis März 1959 Besuch der Grundschule (Domschule) in Fulda

April 1959 bis Juni 1968 Besuch des Gymnasiums Rhabanus-Maurus-Schule
in Fulda; Abitur: 20. Juni 1968

Studium

WS 1968/69 Studienfach Biologie an der Julius-Maximilians-
Universität Würzburg

WS 1971/72 bis WS 1972/73 Studienfach Chemie an der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

seit SS 1973 Studienfach Pharmazie
erstes Pharmazeutisches Staatsexamen 01.04.1975
zweites Pharmazeutisches Staatsexamen 14.04.1976

Beruflicher Werdegang

Juni 1969 bis Juli 1971 Praktikum in der Bahnhof-Apotheke in Fulda;
pharmazeutische Vorprüfung am 06.07.1971

Seit 01.10.1976 Verwalter einer wissenschaft-
lichen Assistentenstelle am Institut für Pharma-
kologie und Toxikologie der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

ANHANG I

Tabelle 1

Freiwillige Alkoholaufnahme von 19 männlichen Ratten, ermittelt durch gleichzeitiges Anbieten von 5 %iger Alkohollösung und Wasser, nach sechstägiger Behandlung mit einer Alkohollösung (20 %ig, g/g), die intragastrisch in einer Dosis von 6 bis 10 g/kg Körpergewicht appliziert wurde (näheres s. Text).

Versuchstag	A*	B*	C*
1	0,9 $\pm$ 0,1	22,6 $\pm$ 2,0	4,7 $\pm$ 0,8
2	1,6 $\pm$ 1,0	25,8 $\pm$ 1,0	8,0 $\pm$ 5,4
3	1,9 $\pm$ 1,5	27,5 $\pm$ 0,9	6,6 $\pm$ 5,2
4	1,7 $\pm$ 1,1	29,8 $\pm$ 1,0	7,1 $\pm$ 4,9
5	1,8 $\pm$ 1,1	29,6 $\pm$ 0,9	7,3 $\pm$ 5,2
6	2,5 $\pm$ 1,5	30,0 $\pm$ 1,0	9,3 $\pm$ 5,7
7	2,3 $\pm$ 1,3	30,0 $\pm$ 1,1	9,2 $\pm$ 5,5

*

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung in Gramm;
 $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit
 (Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 2

Freiwillige Alkoholaufnahme von 19 weiblichen Ratten, ermittelt durch gleichzeitiges Anbieten von 6 %iger Alkohollösung und Wasser, vor und nach einer 35-tägigen Periode, während der die einzige Trinkflüssigkeit 6 %iger Alkohol war (näheres siehe Text).

Versuchstag	A*	B*	C*
1	7,0 $\pm$ 1,3	22,1 $\pm$ 1,4	31,9 $\pm$ 5,6
2	7,5 $\pm$ 1,9	25,1 $\pm$ 1,4	28,3 $\pm$ 6,1
3	10,4 $\pm$ 2,8	24,4 $\pm$ 2,3	37,6 $\pm$ 7,2
4	9,0 $\pm$ 1,8	26,0 $\pm$ 1,8	39,1 $\pm$ 7,4
5	8,4 $\pm$ 2,4	22,8 $\pm$ 1,7	33,9 $\pm$ 7,6
41	7,8 $\pm$ 2,0	37,7 $\pm$ 2,0	22,2 $\pm$ 5,2
42	10,6 $\pm$ 2,6	35,9 $\pm$ 2,3	28,2 $\pm$ 6,2
43	8,2 $\pm$ 2,2	29,0 $\pm$ 1,8	27,2 $\pm$ 6,6
44	9,9 $\pm$ 2,4	33,6 $\pm$ 2,9	30,5 $\pm$ 7,2
45	8,4 $\pm$ 2,4	31,4 $\pm$ 1,7	26,4 $\pm$ 6,5
46	8,9 $\pm$ 2,0	33,7 $\pm$ 2,6	29,3 $\pm$ 7,3
47	8,3 $\pm$ 2,2	30,0 $\pm$ 1,7	27,0 $\pm$ 6,7
48	9,3 $\pm$ 2,3	33,5 $\pm$ 1,9	28,8 $\pm$ 6,8
49	9,3 $\pm$ 2,4	33,0 $\pm$ 1,4	29,3 $\pm$ 7,1

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit (Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 3

Freiwillige Alkoholaufnahme von 19 weiblichen Ratten, ermittelt durch gleichzeitiges Anbieten von 3 %iger Alkohollösung und Wasser, vor und nach einer 35-tägigen Periode, während der die einzige Trinkflüssigkeit 3 %iger Alkohol war (näheres siehe Text).

Versuchstag	A*	B*	C*
1	5,7 $\pm$ 1,6	20,4 $\pm$ 0,7	27,4 $\pm$ 7,2
2	5,1 $\pm$ 1,7	19,5 $\pm$ 0,6	26,3 $\pm$ 8,9
3	7,0 $\pm$ 1,8	20,1 $\pm$ 0,8	33,8 $\pm$ 9,0
4	5,9 $\pm$ 1,9	21,2 $\pm$ 0,5	27,8 $\pm$ 8,9
5	4,8 $\pm$ 1,8	20,4 $\pm$ 0,6	24,5 $\pm$ 9,2
41	17,9 $\pm$ 2,3	25,1 $\pm$ 1,2	71,2 $\pm$ 8,1
42	18,4 $\pm$ 1,9	21,9 $\pm$ 0,8	84,0 $\pm$ 8,0
43	18,6 $\pm$ 2,0	23,3 $\pm$ 0,9	80,7 $\pm$ 8,1
44	21,0 $\pm$ 3,3	25,2 $\pm$ 1,0	83,7 $\pm$ 8,2
45	18,9 $\pm$ 2,1	23,3 $\pm$ 0,9	82,7 $\pm$ 8,3
46	19,7 $\pm$ 2,2	23,9 $\pm$ 1,0	82,3 $\pm$ 8,2
47	20,3 $\pm$ 2,2	24,6 $\pm$ 1,1	82,2 $\pm$ 8,3
48	22,3 $\pm$ 2,0	25,3 $\pm$ 1,1	88,7 $\pm$ 6,9
49	19,5 $\pm$ 1,9	22,4 $\pm$ 1,1	87,0 $\pm$ 7,1

*

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung in Gramm;
 $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit
 (Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 4

Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan auf den freiwilligen Alkoholverbrauch bei weiblichen Ratten (30 mg/kg an Tag 9 bis 16, 60 mg/kg an Tag 17 bis 24). 5-Hydroxytryptophan wurde mittels Pluronic F 68 (2,5 % g/v) in Lösung gebracht und den Versuchstieren intraperitoneal injiziert. Die Kontrolltiere erhielten gleiche Mengen des Vehikels (5 ml/kg i.p.).

Versuchsgruppe (n = 8)

Versuchstag	A*	B*	C*
1	19,8 ± 2,1	24,5 ± 1,3	81,1 ± 8,7
2	21,5 ± 1,0	21,7 ± 1,0	99,5 ± 0,4
3	22,3 ± 1,1	22,7 ± 1,1	98,6 ± 0,6
4	24,6 ± 1,3	24,9 ± 1,4	99,0 ± 0,6
5	22,2 ± 1,0	23,0 ± 0,9	96,6 ± 2,3
6	22,9 ± 1,6	23,8 ± 1,0	95,6 ± 4,4
7	11,6 ± 1,1	23,9 ± 1,3	95,2 ± 2,8
8	25,2 ± 1,3	25,8 ± 1,3	98,0 ± 0,5
9	21,3 ± 0,8	21,4 ± 0,8	99,7 ± 0,3
10	21,7 ± 2,5	25,5 ± 1,2	84,7 ± 8,3
11	21,5 ± 1,6	21,7 ± 1,6	98,7 ± 0,7
12	22,3 ± 1,4	23,2 ± 1,3	96,5 ± 2,8
13	26,6 ± 2,9	27,8 ± 2,5	95,0 ± 3,2
14	20,5 ± 2,8	23,2 ± 1,3	89,1 ± 10,9
15	25,7 ± 2,9	27,5 ± 2,1	92,3 ± 6,3
16	27,9 ± 1,9	28,4 ± 1,6	98,0 ± 2,0
17	20,8 ± 2,1	20,8 ± 2,1	100,0 ± 0,0
18	26,6 ± 1,2	26,6 ± 1,2	100,0 ± 0,0
19	25,8 ± 3,0	29,2 ± 1,4	88,4 ± 9,4

Tabelle 4 (Fortsetzung)

Versuchstag	A*	B*	C*
20	24,4 $\pm$ 1,3	24,8 $\pm$ 1,3	98,4 $\pm$ 0,7
21	29,7 $\pm$ 1,5	29,8 $\pm$ 1,5	99,8 $\pm$ 0,2
22	31,5 $\pm$ 2,0	31,6 $\pm$ 2,0	99,8 $\pm$ 0,2
23	28,5 $\pm$ 1,9	30,0 $\pm$ 1,1	94,9 $\pm$ 4,7
24	27,1 $\pm$ 1,5	27,6 $\pm$ 1,3	97,9 $\pm$ 1,4

Kontrollgruppe (n = 8)

Versuchstag	A*	B*	C*
1	22,5 $\pm$ 3,0	25,5 $\pm$ 2,6	87,0 $\pm$ 6,1
2	21,7 $\pm$ 1,7	22,0 $\pm$ 1,7	98,7 $\pm$ 0,8
3	21,5 $\pm$ 2,3	23,3 $\pm$ 1,8	92,0 $\pm$ 5,8
4	25,1 $\pm$ 2,0	25,3 $\pm$ 2,0	99,2 $\pm$ 0,6
5	22,6 $\pm$ 1,9	22,7 $\pm$ 2,0	99,8 $\pm$ 0,2
6	23,8 $\pm$ 2,3	24,0 $\pm$ 2,3	99,2 $\pm$ 0,4
7	25,7 $\pm$ 2,0	25,7 $\pm$ 2,0	100,0 $\pm$ 0,0
8	25,4 $\pm$ 2,1	25,4 $\pm$ 2,1	100,0 $\pm$ 0,0
9	23,6 $\pm$ 2,4	23,8 $\pm$ 2,4	99,4 $\pm$ 0,4
10	24,4 $\pm$ 1,9	25,3 $\pm$ 1,8	96,6 $\pm$ 2,0
11	23,9 $\pm$ 2,3	23,0 $\pm$ 2,3	100,0 $\pm$ 0,0
12	23,9 $\pm$ 2,0	24,1 $\pm$ 2,0	99,2 $\pm$ 0,6
13	23,8 $\pm$ 2,9	24,4 $\pm$ 2,7	97,4 $\pm$ 2,6
14	19,3 $\pm$ 2,6	19,7 $\pm$ 2,5	97,8 $\pm$ 2,2
15	22,5 $\pm$ 1,8	22,6 $\pm$ 1,8	99,3 $\pm$ 0,7
16	24,2 $\pm$ 2,2	24,2 $\pm$ 2,2	100,0 $\pm$ 0,0

./.

VI

Tabelle 4 (Schluß)

Versuchstag	A*	B*	C*
17	22,0 $\pm$ 2,2	23,1 $\pm$ 2,3	95,1 $\pm$ 3,3
18	25,1 $\pm$ 2,6	25,8 $\pm$ 2,6	97,1 $\pm$ 1,5
19	19,8 $\pm$ 2,2	21,2 $\pm$ 2,1	93,7 $\pm$ 4,5
20	23,3 $\pm$ 2,0	23,9 $\pm$ 2,2	97,6 $\pm$ 1,6
21	23,3 $\pm$ 2,4	23,8 $\pm$ 2,4	97,8 $\pm$ 1,8
22	25,5 $\pm$ 2,1	36,8 $\pm$ 2,1	98,9 $\pm$ 0,8
23	24,7 $\pm$ 1,9	25,1 $\pm$ 1,8	98,0 $\pm$ 1,4
23	21,4 $\pm$ 2,2	34,4 $\pm$ 2,1	97,3 $\pm$ 2,1

*

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung (3 % g/g) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit (Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 5

Einfluß von L-5-Hydroxytryptophan und von Ro 4-4602/1 auf den freiwilligen Alkoholverbrauch bei weiblichen Ratten. Einer Versuchsgruppe wurden beide Substanzen appliziert (L-5-Hydroxytryptophan 60 mg/kg, Ro 4-4602/1 50 mg/kg i.p. an Tag 7 bis 16), während die zweite Gruppe ausschließlich mit Ro 4-4602/1 (50 mg/kg i.p.) behandelt wurde. Als Lösungsvermittler wurde Pluronic F 68 in Form einer 2,5 %igen (g/v) wäßrigen Lösung verwendet (5 ml/kg).

Gruppe (n = 8): L-5-Hydroxytryptophan / Ro 4-4602/1

Versuchstag	A*	B*	C*
1	24,6 ± 4,7	38,6 ± 3,2	61,1 ± 8,8
2	30,3 ± 2,9	34,4 ± 3,2	88,9 ± 4,6
3	27,4 ± 3,2	32,7 ± 2,6	83,8 ± 6,4
4	31,6 ± 4,1	34,0 ± 3,8	92,1 ± 3,8
5	27,6 ± 3,8	32,1 ± 2,2	84,2 ± 9,2
6	31,6 ± 3,3	36,4 ± 2,6	87,0 ± 6,4
7	28,0 ± 3,8	30,1 ± 3,3	91,1 ± 5,2
8	27,4 ± 2,4	33,4 ± 2,2	83,2 ± 6,5
9	26,4 ± 3,0	35,4 ± 3,7	78,1 ± 8,3
10	24,5 ± 3,8	38,3 ± 3,7	67,2 ± 10,3
11	23,1 ± 4,0	39,7 ± 3,6	58,7 ± 9,6
12	19,2 ± 3,7	46,1 ± 6,0	50,5 ± 11,4
13	27,6 ± 4,3	46,5 ± 3,6	60,6 ± 8,5
14	17,5 ± 2,4	45,1 ± 4,4	42,0 ± 7,2
15	19,2 ± 4,6	48,0 ± 4,3	45,8 ± 9,4
16	23,3 ± 3,5	49,7 ± 4,4	46,1 ± 6,0

Gruppe (n = 8): Ro 4-4602/1

Versuchstag	A*	B*	C*
1	23,7 ± 3,5	31,2 ± 2,4	73,4 ± 7,8
2	26,4 ± 3,4	29,8 ± 2,6	86,4 ± 4,9
3	24,9 ± 1,8	27,9 ± 1,9	90,0 ± 4,7

Tabelle 5 (Schluß)

4	30,1 ± 3,2	33,9 ± 2,4	87,1 ± 5,3
5	26,9 ± 3,1	31,1 ± 2,5	85,9 ± 5,4
6	27,4 ± 4,1	32,1 ± 2,6	80,6 ± 8,9
7	23,5 ± 2,4	25,8 ± 2,2	90,6 ± 4,8
8	24,3 ± 2,2	27,3 ± 1,8	88,5 ± 4,5
9	19,8 ± 2,4	25,6 ± 2,6	79,5 ± 8,3
10	23,1 ± 2,8	27,3 ± 2,7	85,0 ± 5,6
11	25,2 ± 4,2	30,6 ± 3,4	80,3 ± 8,0
12	23,2 ± 3,2	29,4 ± 2,6	79,1 ± 7,2
13	28,2 ± 3,7	32,6 ± 3,3	87,0 ± 6,4
14	26,6 ± 3,6	31,8 ± 2,6	82,4 ± 5,9
15	25,0 ± 4,3	30,9 ± 3,2	78,9 ± 7,7
16	24,8 ± 3,6	30,0 ± 3,3	82,0 ± 5,7

 *

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung
(3 %ig) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit (Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 6

Einfluß von Quipazin auf die freiwillige Alkoholaufnahme weiblicher Ratten. Den Tieren der Behandlungsgruppe wurde die Substanz vom 8. bis 16. Versuchstag zweimal täglich intraperitoneal appliziert (Tagesdosis: 20 mg/kg Körpergewicht aufgelöst in 2 ml Aqua bidest.). Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten die gleiche Menge Aqua bidest.

Gruppe (n = 8): Quipazin

Versuchstag	A*	B*	C*
1	14,9 ± 1,9	24,2 ± 2,0	64,6 ± 9,3
2	17,6 ± 1,8	23,9 ± 1,2	75,3 ± 8,3
3	16,9 ± 2,1	21,8 ± 1,3	79,7 ± 10,1
4	20,5 ± 1,9	24,2 ± 1,5	85,2 ± 6,8
5	17,3 ± 2,6	23,7 ± 1,4	74,0 ± 10,7
6	21,9 ± 1,3	23,4 ± 1,0	93,3 ± 2,4
7	18,3 ± 2,1	23,7 ± 1,0	78,6 ± 9,7
8	18,4 ± 1,3	21,8 ± 1,5	85,0 ± 4,4
9	12,1 ± 2,4	24,0 ± 2,6	53,4 ± 10,2
10	14,1 ± 1,8	20,2 ± 2,0	69,4 ± 6,3
11	13,6 ± 2,2	20,7 ± 2,2	67,1 ± 8,5
12	11,1 ± 1,7	22,6 ± 2,1	50,7 ± 8,0
13	14,8 ± 1,6	24,5 ± 2,5	64,4 ± 7,2
14	12,5 ± 2,5	21,4 ± 1,5	57,3 ± 11,9
15	13,4 ± 1,3	20,5 ± 1,9	67,7 ± 7,4
16	14,6 ± 1,0	29,8 ± 1,9	64,1 ± 6,0
17	14,0 ± 1,0	20,7 ± 1,6	70,4 ± 6,6
18	11,0 ± 1,2	21,9 ± 1,6	83,3 ± 4,5
19	17,8 ± 1,7	23,0 ± 1,4	78,0 ± 6,0
20	21,4 ± 2,1	26,1 ± 1,7	82,3 ± 6,1
21	17,6 ± 1,7	22,8 ± 1,4	78,2 ± 8,2
22	18,7 ± 1,9	23,1 ± 1,0	79,8 ± 6,0
23	18,4 ± 1,7	22,7 ± 1,4	81,5 ± 6,8
24	17,7 ± 2,1	22,8 ± 1,4	77,4 ± 8,4

Tabelle 6 (Schluß)

Gruppe (n = 8): Kontrolltiere

Versuchstag	A*	B*	C*
1	21,7 ± 2,5	27,1 ± 2,2	80,2 ± 6,5
2	22,4 ± 1,9	26,3 ± 1,6	87,8 ± 5,0
3	22,5 ± 2,4	25,1 ± 1,4	87,8 ± 6,1
4	24,4 ± 2,5	26,2 ± 1,9	92,2 ± 4,5
5	21,6 ± 2,5	24,2 ± 1,1	87,7 ± 8,9
6	24,9 ± 2,1	26,6 ± 1,3	92,3 ± 5,4
7	25,4 ± 2,2	28,4 ± 1,3	88,9 ± 5,1
8	25,6 ± 3,0	26,2 ± 2,8	97,1 ± 2,1
9	23,5 ± 1,9	24,6 ± 1,6	95,0 ± 2,7
10	23,0 ± 2,5	24,8 ± 1,7	92,0 ± 7,0
11	21,5 ± 2,2	23,2 ± 0,9	91,5 ± 7,6
12	21,5 ± 2,2	23,3 ± 1,3	90,7 ± 6,3
13	22,3 ± 2,3	23,5 ± 1,8	93,1 ± 4,2
14	22,0 ± 2,2	23,8 ± 1,4	91,2 ± 5,4
15	20,6 ± 2,1	22,0 ± 1,0	90,7 ± 6,5
16	21,2 ± 2,4	23,7 ± 1,3	87,8 ± 7,7
17	19,3 ± 2,0	22,7 ± 1,0	83,4 ± 6,3
18	22,9 ± 2,8	25,8 ± 1,6	86,7 ± 1,6
19	22,4 ± 2,6	25,2 ± 1,5	86,8 ± 7,1
20	26,6 ± 2,4	28,7 ± 1,3	92,3 ± 5,6
21	23,3 ± 2,1	25,0 ± 1,3	89,8 ± 7,6
22	26,1 ± 2,6	27,8 ± 1,8	92,1 ± 4,8
23	23,9 ± 2,5	25,7 ± 1,7	91,1 ± 4,8
24	21,8 ± 2,5	24,5 ± 1,5	88,5 ± 7,9

•

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung
(3 %ig) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit
(Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 7

Einfluß von Org 6582 auf die freiwillige Alkoholaufnahme weiblicher Ratten. Den Tieren der Behandlungsgruppe wurde die Substanz vom 5. bis zum 10. Versuchstag zweimal täglich per os appliziert (Tagesdosis: 30 mg/kg Körpergewicht, suspendiert in 2 ml 1 %iger Tyloselösung). Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten im gleichen Zeitraum die gleiche Menge des Vehikels.

Gruppe (n = 8): Org 6582

Versuchstag	A*	B*	C*
1	31,5 ± 2,5	36,8 ± 2,4	86,7 ± 5,6
2	30,5 ± 1,6	31,4 ± 1,8	97,2 ± 1,9
3	32,2 ± 2,8	32,9 ± 3,0	98,3 ± 0,9
4	30,4 ± 3,2	31,3 ± 3,6	97,6 ± 1,1
5	27,2 ± 2,7	28,9 ± 3,0	95,4 ± 2,8
6	8,4 ± 2,5	12,2 ± 2,5	70,1 ± 10,0
7	6,1 ± 1,8	16,5 ± 1,3	36,1 ± 9,7
8	8,0 ± 2,1	17,0 ± 2,2	46,2 ± 8,9
9	6,5 ± 1,7	18,3 ± 1,5	36,4 ± 9,3
10	7,2 ± 1,6	17,8 ± 1,0	43,7 ± 9,3

Gruppe (n = 8): Kontrolltiere

Versuchstag	A*	B*	C*
1	28,5 ± 3,0	32,8 ± 3,2	86,4 ± 2,5
2	28,3 ± 2,7	29,2 ± 2,4	96,4 ± 3,2
3	28,9 ± 3,0	29,9 ± 2,9	96,4 ± 2,3
4	30,1 ± 2,8	31,0 ± 3,1	97,5 ± 1,5
5	29,7 ± 2,7	30,5 ± 2,5	96,5 ± 2,1
6	28,3 ± 3,2	29,0 ± 3,2	97,1 ± 1,2
7	27,4 ± 3,7	28,4 ± 3,3	94,6 ± 4,3
8	22,7 ± 4,8	24,2 ± 4,4	91,0 ± 6,7

./.

Tabelle 7 (Schluß)

Versuchstag	A*	B*	C*
9	23,2 + 3,6	23,8 + 3,5	96,9 + 3,0
10	24,2 + 3,0	26,0 + 2,4	91,5 + 5,1

 *

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung
(3 %ig) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit
(Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 8

Experiment IXa): Einfluß von Probenecid auf die freiwillige Alkoholaufnahme weiblicher Ratten ($n = 5$). Den Versuchstieren wurde die Substanz vom 14. bis zum 24. Versuchstag per os appliziert (Dosis: 400 mg/kg Körpergewicht suspendiert in 3 ml 1 %iger Tyloselösung).

Versuchstag	A*	B*	C*
1	7,5 $\pm$ 3,2	24,7 $\pm$ 3,4	30,4 $\pm$ 17,7
2	14,2 $\pm$ 5,6	27,7 $\pm$ 3,6	51,3 $\pm$ 14,8
3	12,9 $\pm$ 4,6	24,7 $\pm$ 3,5	52,2 $\pm$ 14,8
4	13,2 $\pm$ 3,9	23,3 $\pm$ 2,9	56,7 $\pm$ 15,6
5	14,8 $\pm$ 4,1	25,2 $\pm$ 2,9	58,7 $\pm$ 12,2
6	16,9 $\pm$ 3,1	23,9 $\pm$ 4,1	70,7 $\pm$ 11,0
7	18,4 $\pm$ 3,5	28,5 $\pm$ 4,1	64,6 $\pm$ 9,5
8	13,8 $\pm$ 2,0	23,0 $\pm$ 2,7	60,0 $\pm$ 5,6
9	17,2 $\pm$ 2,6	26,2 $\pm$ 3,1	65,6 $\pm$ 7,5
10	15,1 $\pm$ 2,8	21,3 $\pm$ 1,9	70,9 $\pm$ 1,5
11	18,4 $\pm$ 2,7	28,5 $\pm$ 3,7	64,6 $\pm$ 3,0
12	11,8 $\pm$ 1,6	20,9 $\pm$ 4,3	56,5 $\pm$ 8,0
13	12,5 $\pm$ 3,9	26,5 $\pm$ 4,7	47,2 $\pm$ 13,7
14	15,5 $\pm$ 3,2	26,6 $\pm$ 3,8	58,3 $\pm$ 9,6
15	6,3 $\pm$ 1,6	29,3 $\pm$ 4,1	21,5 $\pm$ 6,9
16	1,3 $\pm$ 0,7	31,4 $\pm$ 8,0	4,1 $\pm$ 3,0
17	1,8 $\pm$ 0,6	35,4 $\pm$ 8,8	5,1 $\pm$ 2,8
18	1,9 $\pm$ 1,1	25,7 $\pm$ 7,2	7,4 $\pm$ 4,8
19	1,4 $\pm$ 1,1	33,8 $\pm$ 4,2	4,1 $\pm$ 3,9
20	6,3 $\pm$ 2,7	26,3 $\pm$ 5,6	24,0 $\pm$ 11,1
21	4,9 $\pm$ 2,5	32,3 $\pm$ 5,2	15,2 $\pm$ 7,7
22	5,9 $\pm$ 2,6	31,0 $\pm$ 4,3	19,0 $\pm$ 7,4
23	3,6 $\pm$ 1,6	26,8 $\pm$ 2,7	13,4 $\pm$ 4,9
24	5,0 $\pm$ 1,4	27,1 $\pm$ 2,7	18,5 $\pm$ 4,8
25	3,5 $\pm$ 2,2	30,9 $\pm$ 4,0	11,3 $\pm$ 11,0
26	3,1 $\pm$ 1,5	29,1 $\pm$ 6,5	10,7 $\pm$ 4,2
27	2,5 $\pm$ 1,2	30,3 $\pm$ 3,2	8,3 $\pm$ 4,3
28	3,4 $\pm$ 1,8	29,4 $\pm$ 2,7	11,6 $\pm$ 7,7
29	7,7 $\pm$ 3,0	28,5 $\pm$ 1,3	27,0 $\pm$ 11,9
30	3,0 $\pm$ 2,1	24,8 $\pm$ 2,2	12,1 $\pm$ 9,3

Tabelle 8 (Schluß)

Versuchstag	A*	B*	C*
31	5,8 $\pm$ 3,1	26,1 $\pm$ 1,7	22,2 $\pm$ 8,5
32	5,1 $\pm$ 2,7	27,7 $\pm$ 3,0	18,4 $\pm$ 9,0
33	5,6 $\pm$ 3,0	27,7 $\pm$ 1,8	20,2 $\pm$ 10,1
34	5,0 $\pm$ 2,6	26,9 $\pm$ 2,7	18,6 $\pm$ 8,5
35	7,2 $\pm$ 2,9	28,5 $\pm$ 3,3	25,3 $\pm$ 8,5
36	4,7 $\pm$ 2,3	26,2 $\pm$ 2,2	17,9 $\pm$ 8,3

•

- A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung
(5 %ig) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.
- B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit
(Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.
- C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Tabelle 9

Experiment IXb: Einfluß von Probenecid auf die freiwillige Alkoholaufnahme weiblicher Ratten. Den Tieren der Versuchsgruppe wurde die Substanz vom 5. bis zum 10. Tag per os appliziert (Dosis: 400 mg/kg Körpergewicht suspendiert in 3 ml 1 %iger Tyloselösung). Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten die gleiche Menge des Vehikels.

Gruppe (n = 8): Probenecid:

Versuchstag	A*	B*	C*
1	18,6 ± 3,2	27,0 ± 2,3	67,7 ± 9,9
2	24,5 ± 3,5	32,1 ± 2,3	76,2 ± 8,7
3	20,2 ± 4,2	22,3 ± 3,1	87,8 ± 12,2
4	23,2 ± 4,3	27,9 ± 2,9	81,8 ± 11,5
5	25,4 ± 4,2	29,6 ± 2,1	84,8 ± 11,7
6	19,3 ± 3,3	24,6 ± 1,8	79,1 ± 11,2
7	18,7 ± 4,3	28,7 ± 3,4	66,3 ± 11,7
8	12,7 ± 4,1	26,0 ± 2,3	46,3 ± 12,2
9	11,0 ± 3,4	28,8 ± 2,7	37,6 ± 11,1
10	13,9 ± 3,4	26,0 ± 3,5	41,0 ± 13,0

Gruppe (n = 8): Kontrolltiere

Versuchstag	A*	B*	C*
1	18,6 ± 2,8	37,2 ± 2,9	50,9 ± 9,8
2	22,8 ± 1,8	29,9 ± 2,5	77,6 ± 5,4
3	24,0 ± 2,2	26,8 ± 2,6	91,1 ± 4,6
4	26,0 ± 2,2	29,9 ± 2,0	86,7 ± 3,4
5	27,1 ± 2,6	31,6 ± 2,9	86,6 ± 5,3
6	22,4 ± 1,7	26,1 ± 2,4	88,0 ± 6,3
7	24,8 ± 2,1	26,0 ± 2,4	90,7 ± 7,4

./.

Tabelle 9 (Schluß)

Versuchstag	A*	B*	C*
8	23,4 $\pm$ 1,8	27,9 $\pm$ 2,6	86,0 $\pm$ 5,6
9	25,4 $\pm$ 2,1	28,9 $\pm$ 1,7	87,3 $\pm$ 3,9
10	21,3 $\pm$ 1,7	25,3 $\pm$ 2,7	86,8 $\pm$ 5,4

*

A Menge der täglich aufgenommenen Alkohollösung
(3 %ig) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

B Menge der täglich insgesamt aufgenommenen Flüssigkeit (Wasser und Alkohol) in Gramm; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

C Prozentualer Anteil von A an B; $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$.

Die fluoreszenzphotometrische Bestimmung von Serotonin (5-HT)
und 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA) in Hirngewebe

Chemikalien

Borsäure kristallin p.a.	Merck Art.	165
Butanol-(1) p.a.	Merck Art.	1990
Chloroform p.a.	Merck Art.	2445
L-Cysteiniumchlorid-H ₂ O	Merck Art.	2839
Essigsäure-n-butylester p.a.	Merck Art.	9652
n-Heptan p.a.	Merck Art.	4379
5-Hydroxyindolessigsäure	Merck Art.	24557***
Kaliumdihydrogenphosphat p.a.	Merck Art.	3873
Methanol	Merck Art.	6000
Natriumcarbonat wasserfrei	Merck Art.	6392
di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat	Merck Art.	6580
Natriumchlorid p.a.	Merck Art.	6404
Natriumhydroxid p.a.	Merck Art.	6498
Natrium-meta-perjodat p.a.	Merck Art.	6597
o-Phthaldialdehyd	Merck Art.	11452*
Salzsäure rauchend min. 37 %	Merck Art.	317
Serotonin-Creatininsulfat	Fluka AG	85030**
Titriplex III p.a.	Merck Art.	8418***
Zinksulfat-7-hydrat p.a.	Merck Art.	8883

* Aufbewahrung im Kühlschrank bei -20°C

** Aufbewahrung im Kühlschrank

*** Aufbewahrung über Blaugeel und im Vakuum

XVIII

Lösungen

Boratpuffer pH 10

31 g Borsäure und 80 ml 5N Natriumhydroxidlösung werden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Cysteinlösung 0,1 %ig: 10 mg Cysteiniumchlorid werden in 10 ml Wasser aufgelöst.

Cysteinlösung 1 %ig: 100 mg Cysteiniumchlorid werden in 10 ml Wasser aufgelöst.

Cysteinlösung 6 %ig: 3 g Cysteiniumchlorid werden in 50 ml Wasser aufgelöst.

Die Lösungen werden vor jeder Analyse frisch zubereitet und im Kühlschrank aufbewahrt.

Lösung I: 21 ml 6 %ige Cysteinlösung, 2,5 ml 10 N Salzsäure werden mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt (pH = 1).

Lösung II: 1 ml 10 N Salzsäure und 100 µl 0,1 %ige Cysteinlösung werden mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt (pH = 1).

Diese Lösungen werden vor jeder Analyse frisch zubereitet.

Natriumcarbonatlösung: 31,8 g Natriumcarbonat werden in 100 ml Wasser aufgelöst.

Natriumhydroxidlösungen:

1 N: 40 g Natriumhydroxid werden gelöst und mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

5 N: 200 g Natriumhydroxid werden gelöst und mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Die Lösungen werden in geeigneten Flaschen aus Kunststoff aufbewahrt.

Natrium-meta-perjodatlösung: 10 mg werden mit Wasser auf 50 ml aufgelöst.

Die Lösung wird vor jeder Analyse frisch zubereitet.

Phosphatpuffer pH 7:

Lösung a) 3,4 g Kaliumdihydrogenphosphat werden mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt.

Lösung b) 8,9 g di-Natriumhydrogenphosphat werden mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

39 ml Lösung I werden mit Lösung II auf 100 ml aufgefüllt. Diese Lösung wird im Kühlschrank aufbewahrt.

o-Phthaldialdehydlösung I (OPT I): 10 mg OPT werden in 10 ml Methanol gelöst.

o-Phthaldialdehydlösung II (OPT II): 10 mg OPT werden in 100 ml 10 N HCl gelöst.

OPT I und OPT II werden unmittelbar vor Gebrauch frisch hergestellt. Die Meßkolben werden mit Aluminiumfolie umwickelt (Lichtschutz) und im Kühlschrank aufbewahrt.

Salzsäurelösungen:

1 N: 82,92 ml 37 %ige HCl werden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

10 N: 829,2 ml 37 %ige HCl werden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Stammlösungen:

5-HIAA: 10 mg 5-HIAA, 10 mg Cysteiniumchlorid und 1 ml 1 N HCl werden mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt (Konzentration: 100 µg/ml; pH = 2).

5-HT: 11,75 mg Serotoninkreatininsulfat, 10 mg Cysteiniumchlorid und 1 ml 1 N HCl werden mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt (pH = 2).

Die beiden Stammlösungen werden vor jeder Analyse frisch zubereitet und im Kühlschrank aufbewahrt.

Titriplex III Lösung: 2 g Titriplex III werden gelöst, mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt und kühl aufbewahrt.

Zinksulfatlösung: 10 g ZnSO_4 werden gelöst und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

Für alle Lösungen wurde bidestilliertes Wasser verwendet.

Die organischen Lösungsmittel n-Butanol, n-Heptan und Essigsäure-n-butylester werden nacheinander mit gleichen Volumina 1 N NaOH, 1 N HCl und zwei mal mit Wasser gewaschen (10 min.). n-Butanol wird anschließend durch Zugabe von NaCl getrocknet.

Verwendetes Gerät und Meßinstrument

Plastikröhrchen

Sarstedt Nr. 517 (Polypropylen; 30 ml) mit Stopfen

Sarstedt Nr. 518 (Polypropylen; 13 ml) mit Stopfen

Reagenzgläser

"Assistent" No. 950 ca. 98 x 16/17 mm

Ultra Turrax Typ 18/2

Zentrifugen

Heraeus Christ Typ 2K

Beckman 5.5o Ultrazentrifuge mit Rotor Typ 3o

Spektralfluoreszenzphotometer

Farrand Cat. No. 1o4 242 mit Farrand Xenon Power

Supply Cat. No. 67-6o-1o2-3, Multiplier RCA 1P28B,

Anzeigeeinheit und dazugehörigem Stromversorgungsteil.

Analysengang

Nach dem Wiegen werden die frisch entnommenen oder tiefgefrorenen Gehirne einzeln in 3 ml Lösung I mit dem "Ultra Turrax" homogenisiert. Der Schaft wird mit 3 ml Lösung I abgespült. Die Homogenate werden mit je 1 ml Zinksulfatlösung enteiweißt und mit 0,9 ml 1 N NaOH versetzt. Die Proben werden bei 0°C 5 Minuten lang zentrifugiert (10.000 U/min). Die Überstände der Gehirne von Tieren aus der Behandlungs- und der Kontrollgruppe werden in Plastikröhrchen überführt, die jeweils 0,5 ml 6 %ige Cysteinlösung, 0,5 ml Titriplex III Lösung und 0,9 ml 1 N HCl enthalten.

Die Überstände der Gehirne von vier weiteren Tieren, die unbehandelt blieben, werden in einem Meßzylinder gemischt und anschließend wieder in vier Proben gleicher Volumina aufgeteilt. Auch diese Proben werden in Plastikröhrchen überführt, die HCl, Cystein- und die Titriplex III-Lösung enthalten. Danach werden 1 ml 5-HT Stammlösung mit 4 ml Wasser verdünnt. Je zwei der vier Proben werden mit je 20 µl 5-HT und 5-HIAA Verdünnung versetzt und durchlaufen parallel zu allen übrigen Proben als interne Standards (Sti) den gesamten Analysengang. Auch die beiden anderen Proben (T) dienen später der Quantifizierung.

Zur Extraktion von 5-HIAA werden je 5 ml Essigsäure-n-butylester und etwa 3 g NaCl zugesetzt. Nach 5-minütigem Umschütteln wird bei 4500 U/min 5 Minuten lang zentrifugiert. Mit Hilfe einer Pipette wird die organische Phase abgetrennt und in ein Plastikröhrchen überführt, das etwa 2 g NaCl und 4 ml Lösung I enthält. Serotonin bleibt in der wäßrigen Phase zurück und wird bis zur weiteren Aufarbeitung im Kühlschrank aufbewahrt. Die organische Phase wird durch 5-minütiges Schütteln gewaschen. Anschließend wird bei 4500 U/min zentrifugiert.

Zur Reextraktion von 5-HIAA werden 3 ml der organischen Phase entnommen und in ein Plastikröhrchen überführt, das 1,2 ml Phosphatpuffer enthält, Extraktion und Zentrifugation erfolgen wie oben beschrieben. Von der wäßrigen Phase werden 0,4 ml in ein Reagenzglas pipettiert. Aus der 5-HIAA Stammlösung wird ein externer Standard (Ste) hergestellt,

wozu zunächst 1 ml mit 4 ml Wasser verdünnt werden. 20 µl dieser Lösung werden dann mit 1,2 ml Phosphatpuffer gemischt. Hiervon werden 0,4 ml in ein Reagenzglas pipettiert. Zur Ermittlung des Leerwertes werden 0,4 ml Phosphatpuffer in ein Reagenzglas pipettiert (Bl). Zusätzlich werden aus beliebigen Proben weitere 0,4 ml der wässrigen Phase pipettiert (Ox). Es wird empfohlen, die Proben T, Sti, Ste, Bl und Ox doppelt anzusetzen. An dieser Stelle kann der Analysengang für 5-HIAA unterbrochen werden. Die Proben sind dann bei -20°C im Kühlschrank aufzubewahren. Die weitere Behandlung der Proben ist im nachfolgenden Schema zusammengefaßt.

Probe	Versuchstiere	Kontrolltiere	Ste	Sti	T	Bl	Ox
1.)		0,4 ml				1.)	0,4 ml
2.)	40 µl 1 %ige Cysteinlösung					2.)	40 µl NaIO ₄ 0,02 %ig
3.)	0,8 ml 37 %ige HCl					3.)	0,8 ml 37 %ige HCl 30 min. stehenl.
4.)	40 µl OPT in Methanol					4.)	40 ml 1 %ige Cysteinlösung
5.)	40 µl NaIO ₄ 0,02 %ig					5.)	40 µl OPT in Methanol

Die Reagenzgläser werden unmittelbar danach 20 Minuten lang in ein Wasserbad bei einer Temperatur von 78°C gestellt und anschließend rasch abgekühlt. Die fluoreszenzphotometrische Bestimmung erfolgt bei 360 nm für die Anregung und 470 nm für die Emission (Spalt 2/2/2/2). Die Konzentrationen werden nach der Gleichung

$$\mu\text{g 5-HIAA} = \frac{0,4 (\text{Probe} - \text{Ox})}{\text{Sti} - \text{T}} \text{ ermittelt und auf 1 Gramm}$$

Gewebe bezogen. Die Wiederfindungsrate (Recovery) läßt sich errechnen nach

$$\frac{\text{Sti} - \text{T}}{\text{Ste} - \text{Bl}} \times 1,67 \times 100$$

Zur Extraktion von 5-HT wird die wäßrige Phase mit 15 ml Butanol, 0,4 ml 1 N NaOH und 1 ml Natriumcarbonatlösung versetzt. Um zu verhindern, daß sich Anteile der wäßrigen Phase mit Butanol vermischen, muß bei allen Proben NaCl als Bodenkörper vorliegen. Die Proben werden extrahiert und zentrifugiert wie oben beschrieben.

Um 5-Hydroxytryptophan aus der Butanolphase zu entfernen, wird nach der Phasentrennung (Pipette) mit 5 ml Borat-Puffer pH 10 gewaschen, nachdem etwa 1 g NaCl zugegeben wurde. Es wird erneut geschüttelt und zentrifugiert.

Zur Reextraktion von 5-HT werden 10 ml der Butanolphase mit 1 ml Lösung II versetzt. Nach Zugabe von 17 ml n-Heptan wird geschüttelt und zentrifugiert. Von den Proben der Behandlungs- und Kontrolltiere sowie von den T- bzw. Sti-Proben werden 0,4 ml aus der wäßrigen Phase entnommen und in ein Reagenzglas überführt.

Aus der 5-HT Stammlösung wird ein externer Standard (Ste) hergestellt, wozu 1 ml Stammlösung mit 1 ml Wasser verdünnt wird. 20 µl der Verdünnung werden mit 1 ml Lösung II vermischt. Hier von werden 0,4 ml in ein Reagenzglas pipettiert. Zur Ermittlung des Leerwertes werden 0,4 ml Lösung II in ein Reagenzglas pipettiert (Bl). Zusätzlich werden aus beliebigen Proben des Analysenganges 0,4 ml der wäßrigen Phase pipettiert (Ox). Es wird empfohlen, die Proben T, Sti, Ste, Bl und Ox doppelt anzusetzen. An dieser Stelle kann die Analyse von 5-HT unterbrochen werden. Die Proben sind in diesem Fall bei -20°C aufzubewahren. Die weitere Behandlung der Proben ist im nachfolgenden Schema zusammengefaßt.

Probe	Versuchstiere	Kontrolltiere	Ste	Sti	T	Bl	Ox
		0,4 ml Probe 0,8 ml OPT in 10 N HCl					0,4 ml Probe 0,8 ml Wasser

Die Proben werden im Wasserbad 20 min lang bei 78°C erhitzt und anschließend rasch abgekühlt. Die fluoreszenzphotometrische Bestimmung erfolgt bei 360 nm für die Anregung und 470 nm für die Emission (Spalt 2/2/2/2). Die Konzentrationen werden nach der Gleichung

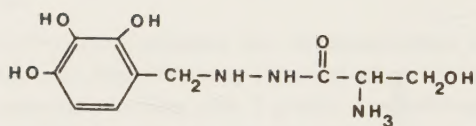
$$\mu\text{g 5-HT} = \frac{0,5 (\text{Probe} - \text{Ox})}{\text{Sti} - \text{T}} \quad \text{errechnet und auf 1 Gramm}$$

Gewebe bezogen. Die Wiederfindungsrate (Recovery) läßt sich errechnen nach:

$$\% \text{ 5-HT} = \frac{\text{Sti} - \text{T}}{\text{Ste} - \text{Bl}} \times 1,5 \times 100$$

NC(Cc1c[nH]c2cc(O)ccc12)C(=O)O

5-Hydroxytryptophan

c1ccc2c(c1)c(c[nH]2)C3CCNCC3CCN(CC)S(=O)(=O)c1ccc(cc1)C(=O)O

Organon 6582

